

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ГРУППУ
ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ МИНЕРАЛИЗАЦИЕЙ.
“МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЯДЫ”**

*Учебно-методическое пособие для студентов
по специальности*

060108 – Фармация

Воронеж -2004

Утверждено научно-методическим советом фармацевтического факультета, протокол № 3 от 11.05.2004 г.

Составители: асс., к.б.н. Шкутина И.В.
асс. Евстигнеева В.П.
асс., к.ф.н. Брежнева Т.А.
проф., д.ф.н. Сливкин А.И.
проф., д.х.н. Селеменев В.Ф.

Учебно-методическое пособие подготовлено на кафедре аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета

Рекомендуется для студентов 4 и 5 курсов фармацевтического факультета.

Содержание

Введение.....	4
Физико-химические свойства “металлических ядов”	4
Токсикокинетика “металлических ядов”	5
Патогенез токсического действия.....	6
Методы минерализации органических веществ.....	7
Меры предосторожности при минерализации.....	10
Отбор и подготовка проб биологического материала при минерализации... ..	11
Вопросы для самоконтроля	12
Лабораторная работа № 1. Минерализация биологического материала концентрированными серной и азотной кислотами	13
Дробный и систематический ход анализа “металлических ядов”	15
Вопросы для самоконтроля	21
Лабораторная работа № 2. Выделение ионов “металлических ядов” из минерализата с помощью хелатообразующих реагентов.....	22
Лабораторная работа № 3. Исследования минерализата после изолирования “металлических ядов” из биологического материала с помощью концентрированных серной и азотной кислот.....	28
Количественное определение “металлических ядов” в минерализатах.....	46
Вопросы для самоконтроля	49
Лабораторная работа № 4. Фотометрическое определение хрома в биологическом материале	50
Лабораторная работа № 5. Определение содержания “металлических ядов” методом атомно-абсорбционной спектроскопии	53
Вопросы к коллоквиуму “Металлические яды”	57
Литература	57

Введение

В химико-токсикологическом анализе к “металлическим ядам” относятся соединения бария, висмута, кадмия, марганца, меди, ртути, свинца, серебра, таллия, хрома, цинка и некоторых других металлов, а также соединения неметаллов (мышьяка, сурьмы). Большинство из перечисленных выше химических элементов, соединения которых являются токсичными, в небольших количествах содержатся в тканях организма как нормальная составная часть и играют важную роль в физиологических процессах в организме человека.

Катионы металлов выступают в качестве активаторов ферментов: например, медь (аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, фенолазы, карбоксилазы, цитохромоксидазы), марганец (аденозинтрифосфатазы, аминоксилтрансферазы, гексокиназы). Цинк является рекордсменом по числу Zn-зависимых ферментов – их насчитывается свыше 120. Хром, цинк, марганец и другие металлы принимают участие в формировании спиральной структуры нуклеиновых кислот. Медь входит в состав белка – циркулоплазмина, участвует в синтезе гемоглобина. Различные катионы принимают участие в распаде и синтезе как непосредственно белков, углеводов и липидов, так и продуктов их деструкции.

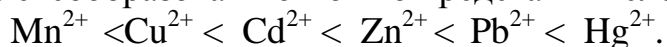
Повышение содержания данных металлов в крови и тканях вызывает отравления. Токсичность “металлических ядов” объясняется связыванием их с соответствующими функциональными группами физиологически активных веществ, находящихся в организме.

Физико-химические свойства “металлических ядов”

Существует тесная взаимосвязь между токсичностью металла и его физико-химическими свойствами. К физико-химическим свойствам металлов, связанных с токсичностью, можно отнести: степень окисления элемента в соединении; электроотрицательность; возможность образования хелатных комплексных соединений; размер частиц (особенно при отравлениях через органы дыхания); растворимость и устойчивость соединений в жидких биосредах и степень гидратации образующихся ионов; гидролиз, растворимость и реакционная способность продуктов гидролиза; способность существовать в коллоидном и твердом состоянии в тканях.

Высокие степени окисления элемента соответствуют более токсичным ионам. Исключение составляют соединения мышьяка. Арсенаты As (+5) менее токсичны, чем арсениты As (+3).

Уменьшение радиуса и увеличение заряда иона должно способствовать хелатированию. Ряд увеличения способности металлов к комплексообразованию можно представить следующим образом:



Токсичность твердых веществ зависит от размера их частиц. Тщательно размельченные твердые вещества являются более токсичными, чем те же вещества, имеющие более крупные частицы. Это объясняется различной растворимостью крупных и мелких частиц вещества, а следовательно, неодинаковой скоростью поступления их в кровь.

На токсичность химических соединений оказывает влияние их растворимость в жирах и воде. Металлическая ртуть и ее соли проникают через кожу вследствие растворимости в липидах. Многие соединения металлов обладают хорошей растворимостью в воде и их токсичность зависит от степени диссоциации. Ряд уменьшения токсичности химических соединений металлов хорошо коррелирует с растворимостью химических соединений:

Нитраты > хлориды > бромиды > ацетаты > иодиды > перхлораты > сульфаты > фосфаты > карбонаты > фториды > гидроксиды > оксиды.

Так, например, хлорид BaCl_2 и нитрат BaNO_3 бария хорошо диссоциируют в воде и обладают высокой токсичностью, а сульфат бария BaSO_4 не растворяется в воде и не оказывает токсического действия на организм.

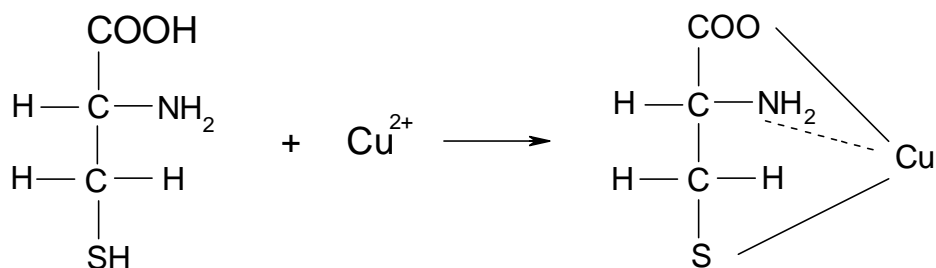
Нерастворимый в воде хлорид ртути(I) Hg_2Cl_2 менее токсичный, чем растворимый в воде хлорид ртути(II) HgCl_2 , а металлическая ртуть, поступившая в пищевой канал, вообще не оказывает токсического действия на организм. Однако под влиянием содержимого желудка металлическая ртуть подвергается химическим превращениям, может растворяться, всасываться и проявлять токсические свойства.

Токсикокинетика “металлических ядов”

“Металлические яды”, поступившие в организм, оказывают определенное действие только тогда, когда вступают во взаимодействие с соответствующими, содержащимися в клетках, реакционноспособными структурами, называемыми *рецепторами*. Функции рецепторов могут выполнять карбоксильные, аминные, гидроксильные, фосфорсодержащие, сульфгидрильные, дисульфидные, фенольные группы аминокислот, пептидов, белков, ферментов, нуклеиновых кислот, птеридинов, пуринов, витаминов и других физиологически активных веществ. Прочность образовавшихся при этом соединений зависит от природы металлов, наличия соответствующих

функциональных групп в молекулах веществ, связывающихся с металлами, природы связи в образовавшихся комплексах и т.д.

Образование внутрикомплексных соединений (хелатов) можно показать на примере взаимодействия ионов меди с цистеином:



При связывании ионов Cu^{2+} с цистеином образуются ковалентные связи между ионом металла и отрицательными зарядами атомов кислорода и серы, а за счет неподеленной электронной пары азота в аминокислоте может реализоваться координационная связь между катионом металла и атомом азота.

Соединения тяжелых металлов и мышьяка могут поступать в организм пероральным, ингаляционным и парентеральным путями. В крови ионы металлов циркулируют в виде комплексов с аминокислотами, белками, липидами.

Металлы распределяются и депонируются практически во всех органах. В высоких концентрациях металлы локализуются и длительно сохраняются в почках и печени из-за высокого содержания в тканях данных органов белка – металлобионина, богатого тиоловыми группами. В костной ткани откладывается свинец, барий, в коже – серебро.

Место локализации зависит и от характера отравления. При остром отравлении мышьяк и ртуть накапливаются в печени и почках, при хроническом – в ногтях, костях, волосах и нервной ткани.

Выделение металлов происходит через почки, печень, слизистую оболочку желудка и кишечника, потовыми и слюнными железами, что может сопровождаться повреждением выделительных аппаратов этих органов.

Патогенез токсического действия

Механизм токсического действия тяжелых металлов и мышьяка складывается из местного и резорбтивного действия. *Местное действие* проявляется в деструкции ткани и зависит от способности этих соединений к диссоциации. При этом в результате уплотнения и денатурации белка образуется некроз тканей со струпом. Наличие в составе молекулы соединений кислотного остатка сильной кислоты (хлороводородной, азотной)

приводит к более выраженному деструктивному действию, чем действие соединений, которые имеют в своем составе кислотный остаток слабой кислоты (уксусной, цианистой).

В основе *резорбтивного действия* лежит блокирование функционально активных групп ферментов и структурных белков. Наибольшее значение имеет блокирование сульфгидрильных (тиоловых) групп (SH), обеспечивающих биологическую активность более 50 % белков – ферментов; блокируются также аминные, карбоксильные и другие группы. В результате потери протеидами многих физико-химических и биологических свойств нарушается белковый, углеводный и жировой обмены. Разрушение структуры клеточных оболочек приводит к выходу из клетки калия и проникновению в нее натрия и воды. Основными сферами избирательной токсичности соединений тяжелых металлов и мышьяка являются специфический эпителий почек, печени и кишечника, эритроциты и нервные клетки, где наблюдается повышенная концентрация этих веществ, поэтому нефропатия, токсическая дистрофия печени, выраженная неврологическая симптоматика и гемолиз часто превалируют в клинической картине этих отравлений (табл.1).

Методы минерализации органических веществ

Для изолирования “металлических ядов” из объектов биологического происхождения необходимо разрушить органические вещества, с которыми связаны металлы, и перевести их в ионное состояние, а затем в минерализатах идентифицировать с помощью качественных реакций и количественно определять соответствующие металлы. Применяемые методы изолирования можно подразделить на две группы: методы сухого озоления и методы мокрого озоления, или мокрой минерализации.

Метод сухого озоления основан на нагревании органических веществ до высокой температуры при доступе воздуха. Сухое озоление производят в фарфоровых, кварцевых или платиновых тиглях. На исследование берутся относительно небольшие навески (1-10 г) исследуемых объектов (биологический материал, пищевые продукты и другие) и нагревают в тигле до 300-400⁰С. Увеличение навесок исследуемых объектов нежелательно, так как при этом значительно увеличивается время озоления. Один из главных недостатков данного метода связан с частичным или полным улетучиванием “металлических ядов” при сжигании. Метод применяется при исследовании объектов на наличие ионов марганца Mn^{2+} , меди Cu^{2+} , цинка Zn^{2+} , висмута Bi^{3+} .

Таблица 1

Токсикологическое значение “металлических ядов”

Металл	Токсикологическое значение
Барий	<p>Попадание в организм растворимых солей бария может вызвать гастроэнтерит, фибрилляцию желудочков и паралич мышц. Особенностью тяжелого отравления барием является гипокалиемия, которая представляет угрозу для жизни.</p>
Свинец	<p>Острое отравление растворимыми солями свинца может вызвать сильные колики, сопровождающиеся запором и диареей. Более распространенным является хроническое отравление свинцом, для которого характерны такие дополнительные симптомы, как чувство усталости, анемия, слабость и болезненность суставов. У маленьких детей отравление свинцом может вызвать кому и энцефалопатию (дистрофическое заболевание головного мозга).</p>
Марганец	<p>Соединения марганца являются сильными протоплазматическими ядами, действуют на центральную нервную систему, вызывая в ней тяжелые органические изменения, поражают также почки, органы кровообращения, легкие. При полосканиях концентрированными растворами перманганата калия наблюдается отек слизистых оболочек с последующими воспалительными явлениями, приводящими иногда к общему отравлению организма.</p>
Хром	<p>При попадании солей хрома внутрь наблюдаются ожоги слизистой оболочки рта, пищевода, желудка, отечность, окрашивание в желтый цвет слизистой полости рта, кровавая рвота. При попадании в организм больших количеств пыли, содержащей хром, развивается пневмония.</p>
Серебро	<p>Наибольшее токсикологическое значение имеет нитрат серебра. Он оказывает прижигающее и вяжущее действие на кожу и слизистые оболочки. При длительной работе как с металлическим серебром, так и с его солями может возникать аргирия (отложение металлического серебра в тканях), проявляющаяся в серо-зеленой окраске кожи и слизистых оболочек.</p>

Металл	Токсикологическое значение
Медь	Проглатывание меди или медноаммониевых солей сначала приводит к появлению желудочно-кишечных симптомов (металлический привкус во рту, тошнота, рвота и диарея). В тяжелых случаях могут последовать поражения печени (особенно у детей) и почек, кома и сердечная недостаточность.
Кадмий	В ряде случаев при отравлении соединениями кадмия отмечается кишечное кровотечение, соединения кадмия могут вызывать перерождение печени.
Цинк	Острое отравление солями цинка может вызвать лихорадку, тошноту, диарею, сонливость, мышечные боли, слабость, отек легких, острую почечную недостаточность.
Висмут	Острое отравление висмутом приводит к повреждению почек, энцефалопатии и периферической невропатии.
Таллий	При отравлении соединениями таллия поражается центральная нервная система, почки. Из других явлений при отравлениях отмечается боль в суставах, выпадение волос.
Ртуть	Пары ртути абсорбируются через кожу и легкие и могут вызвать стоматит, усиленное слюноотделение, металлический привкус во рту, диарею, пневмонит и почечную недостаточность. Проглатывание солей ртути может привести к сильной боли в желудке, рвоте, кровавому поносу, а также к почечной недостаточности, которая обычно становится причиной смерти. Органические соединения ртути концентрируются в центральной нервной системе и вызывают атаксию (нарушение мышечной координации) и судороги.
Сурьма	Поступившие в кровь соединения сурьмы действуют как "капиллярный яд". При отравлениях соединениями сурьмы нарушаются функции сердечной мышцы и печени, отмечается гиперемия ткани легких, кровоизлияние в легкие и в пищевом канале.
Мышьяк	Острое отравление солями мышьяка вызывает сильные боли в животе, рвоту. В ряде случаев под влиянием соединений мышьяка наступает паралич капилляров. Смерть может наступить вследствие сердечно-сосудистой и почечной недостаточности.

Метод сплавления органических веществ с нитратами или карбонатами щелочных металлов в химико-токсикологическом анализе используется чаще, чем метод сухого озоления. Данный метод применяется при специальных заданиях исследовать соответствующие объекты (пилюли, органические соединения, остатки после выпаривания мочи, волосы, ногти и другие) на наличие ионов мышьяка As^{3+} , серебра Ag^+ и некоторых других металлов.

Методы мокрого озоления, или мокрой минерализации основаны на разрушении органических веществ различными окислителями (серной, азотной, хлорной кислотами, реже - пероксидом водорода, хлоратом калия, пергидролем и другими), находящимися в жидкой фазе.

Метод минерализации с помощью хлорной, серной и азотной кислот характеризуется высокой скоростью минерализации, способностью разрушать стойкие вещества по отношению к другим окислителям. Однако при использовании данного метода минерализации необходимо строгое соблюдение техники безопасности из-за возможности взрыва хлора.

Метод минерализации с помощью концентрированных серной и азотной кислот пригоден для анализа объектов исследования на наличие подавляющего большинства катионов, имеющих токсикологическое значение, и может рассматриваться как общий метод минерализации.

Метод обладает рядом преимуществ перед другими методами минерализации: сравнительно быстрое достижение полноты разрушения органических веществ; небольшие объемы получаемого минерализата; высокая чувствительность метода по отношению к ряду катионов.

Однако с помощью данного метода нельзя разрушать объекты, содержащие ртуть, так как в процессе минерализации соединения ртути могут улетучиваться. Поэтому для исследования объектов биологического происхождения на наличие ртути применяют специальную методику исследования – *деструктивный метод*. *Деструкция* – нарушение структуры биологического материала под влиянием азотной, серной и других кислот, обладающих окислительными свойствами, без полного разрушения органических веществ, переходящих в деструктаты. После деструкции в деструктате в различных количествах находятся ионы ртути, белки, пептиды, аминокислоты, липиды и некоторые другие вещества, входящие в состав тканей организма.

Меры предосторожности при минерализации

Из-за несоблюдения мер безопасности при минерализации возможно выбрасывание горячих кислот из колб. В результате этого могут быть повреждены глаза, кожа лица и рук, одежда.

- Разрушение биологического материала необходимо проводить только в вытяжных шкафах с хорошей тягой. При разрушении биологического

материала по соответствующим методикам необходимо пользоваться защитными очками, предохраняющими глаза от попадания горячих кислот и осколков стекла при взрыве содержимого колб.

- Приступать к разрушению биологического материала следует только после ознакомления со свойствами применяемых реактивов. Кислоты и другие используемые для этой цели жидкости не должны содержать примеси соединений металлов, имеющих токсикологическое значение. Поскольку для каждого метода разрушения биологического материала применяются большие объемы кислот, общее количество примесей металлов в минерализатах может оказаться значительным. Эти примеси могут быть обнаружены при дальнейшем исследовании минерализатов с помощью соответствующих реакций и послужить основанием для ошибочного заключения о наличии “металлических ядов” в биологическом материале.

- Если степень чистоты кислот, применяемых для минерализации, неизвестна, то проводят “холостой опыт”. С этой целью кислоты-окислители берут в таких количествах, в которых они применяются для минерализации, и поступают так, как указано в соответствующих методиках разрушения органических веществ. Только при отрицательных реакциях полученных жидкостей на наличие токсичных соединений металлов, делают вывод о пригодности соответствующих кислот для минерализации биологического материала.

Отбор и подготовка проб биологического материала при минерализации

1. Для минерализации берут пробы печени, желудка с содержимым, почек и некоторые другие объекты массой по 100 г. Каждую пробу биологического материала минерализуют отдельно, не допуская смешивания этих проб. Если на исследование поступили относительно большие навески органов трупов или пищевых продуктов, то в таких случаях целесообразно, а иногда даже необходимо брать несколько порций каждого объекта массой по 100 г. При этом разрушение каждой порции проводят отдельно, а затем минерализаты, полученные из одного и того же объекта, соединяют.

2. Количество объекта, которое берут для разрушения, зависит от общей массы объекта исследования, обстоятельства дела и других факторов. Если из материалов дела известно, что после отравления пострадавший жил еще сравнительно долгое время, в течение которого могло происходить выделение яда из организма, или когда имеются указания на малую дозу принятого вещества, необходимо использовать возможно большие навески соответствующих объектов. В тех случаях, когда в распоряжение химика-эксперта поступили малые количества объектов, для разрушения берут и

остатки биологического материала, из которого ранее были отогнаны с водяным паром летучие токсичные вещества.

3. Некоторые объекты биологического происхождения, поступившие на анализ, могут содержать определенное количество жидкости, препятствующее успешному протеканию процесса минерализации. Поэтому перед минерализацией избыток воды из биологического материала удаляют упариванием на водяной бане.

4. В отдельных объектах, подлежащих разрушению, могут содержаться летучие соединения ртути, мышьяка и других металлов, способных улетучиваться при выпаривании жидкостей. Для разложения таких соединений к объектам, содержащим большие количества жидкостей, прибавляют растворы щелочных металлов, а затем проводят упаривание.

5. Если биологический материал консервирован этиловым спиртом, его слабо подщелачивают раствором карбоната натрия, помещают в фарфоровую чашку и отгоняют спирт на водяной бане при температуре не выше 50°C. После этого исследуемые объекты подвергают минерализации.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие физико-химические свойства металлов связаны с токсичностью?
2. Какова клиническая картина отравлений металлами?
3. За счет каких функциональных групп, находящихся в молекулах физиологически активных веществ, происходит связывание катионов “металлических ядов” с этими веществами?
4. Почему необходима минерализация биологического материала при исследовании его на наличие “металлических ядов”?
5. Какие основные правила отбора и подготовки проб биологического материала для минерализации существуют в ХТА ?
6. В каких случаях проводят озоление и сплавление объектов биологического происхождения при исследовании их на наличие “металлических ядов”?
7. Какие окислители применяются для минерализации биологического материала, подлежащего исследованию на “металлические яды”? Каковы преимущества и недостатки хлорной кислоты, применяемой для минерализации?
8. Как проводится разрушение биологического материала с помощью концентрированных серной и азотной кислот?
9. Для каких целей производится денитрация минерализатов и деструктатов и как она осуществляется на практике?
10. Какие меры предосторожности необходимо соблюдать при проведении процесса минерализации?

Лабораторная работа № 1

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА КОНЦЕНТРИРОВАННЫМИ СЕРНОЙ И АЗОТНОЙ КИСЛОТАМИ

Цель работы: овладение техникой проведения минерализации концентрированными кислотами.

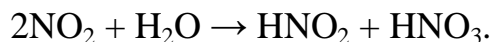
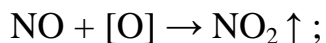
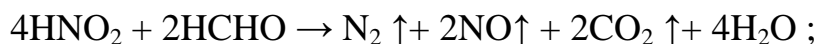
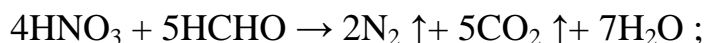
Сущность работы.

Метод минерализации концентрированными азотной и серной кислотами пригоден для анализа объектов исследования на наличие подавляющего большинства “металлических ядов”. На первой стадии минерализации происходит деструкция биологического материала (разрушение форменных элементов). На второй стадии минерализации наблюдается окисление органических веществ, находящихся в деструктате (жидкой фазе).

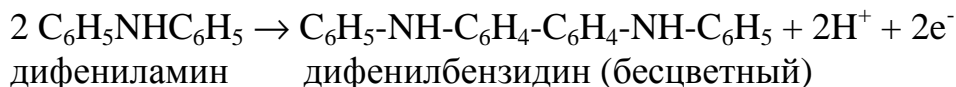
В начале минерализации серная кислота играет роль водоотнимающего средства, при повышении температуры (до 110°C) и концентрации кислота проявляет окислительные свойства, благодаря чему разрушает биологический материал. Азотная кислота на первом этапе минерализации слабо окисляет органические вещества. После того как в процессе разрушения органических веществ из азотной кислоты образуются азотистая кислота и оксиды азота, азотная кислота проявляет себя как сильный окислитель.

После разрушения биологического материала в полученных минерализатах почти всегда содержатся определенные количества азотной и азотистой кислот, а также оксидов азота, которые мешают обнаружению и количественному определению катионов металлов. *Денитрацией* называется процесс удаления соединений азота из минерализатов. С целью денитрации к минерализату добавляют формалин.

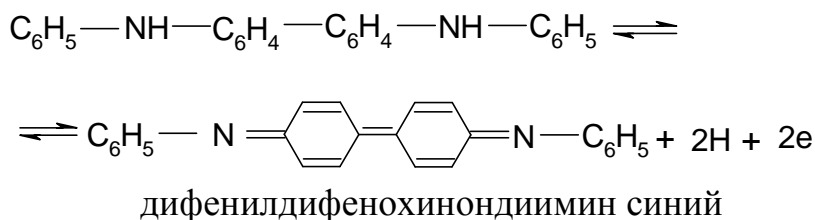
Химические реакции, протекающие при денитрации, можно представить следующим образом:



Для проверки полноты денитрации минерализата проводят реакцию с дифениламином. Нитрит-ион при реакции с дифениламином $(C_6H_5)_2NH$ в среде концентрированной серной кислоты переводит органический реагент в продукт его окисления – синий дифенилдифенохинондиимин (“дифенилбензидиновый фиолетовый” или “голохиноид”). Вначале осуществляется необратимое окисление дифениламина в дифенилбензидин:



Далее происходит обратимое окисление молекулы бензидина присутствующим окислителем до окрашенного в синий цвет дифенилдифенохинондиимина, при котором молекула дифенилбензидина также отдает окислителю два электрона и теряет два иона водорода:



Денитрация считается оконченной, если реакция с раствором дифениламина будет отрицательной.

Материалы и оборудование:

1. Колба Кьельдаля.
2. Капельная воронка.
3. Штатив.
4. Горелка.
5. Исследуемый биологический материал.
6. Азотная кислота, HNO_3 , 3 М раствор.
7. Серная кислота, H_2SO_4 , 3 М раствор.
8. Формалин, $HCHO$, 37-40% водный раствор формальдегида.
9. Дифениламин, $(C_6H_5)_2NH$.

Выполнение работы.

В колбу Кьельдаля емкостью 500-800 мл вносят 100 г измельченного исследуемого объекта. Затем добавляют 75 мл смеси, состоящей из равных объемов воды, концентрированных серной H_2SO_4 и азотной HNO_3 кислот. Колбу с исследуемым объектом закрепляют в штатив так, чтобы дно ее находилось на расстоянии 1-2 см от асбестированной сетки. Над колбой закрепляют капельную воронку, в которую наливают концентрированную

азотную кислоту, разбавленную равным объемом воды. После этого начинают осторожно нагревать колбу. В течение 30-40 минут происходит деструкция биологического материала. При этом прозрачная жидкость в колбе приобретает желтую или бурую окраску. Затем колбу опускают на сетку, усиливают нагревание и по каплям из капельной воронки вносят в нее разбавленную азотную кислоту. Прибавление азотной кислоты регулируют так, чтобы бурые пары оксидов азота, образующиеся при минерализации, не выходили из нее. Процесс минерализации прекращают тогда, когда жидкость просветлеет и при нагревании колбы (без прибавления азотной кислоты) начнут обильно выделяться белые пары серной кислоты.

С целью денитрации минерализат охлаждают, прибавляют 10-15 мл дистиллированной воды и нагревают до кипения, а затем по каплям прибавляют формалин. При этом отмечается обильное выделение бурых паров. После окончания выделения этих паров жидкость еще нагревают 5-10 минут, а затем 1-2 капли охлажденной жидкости наносят на предметное стекло и прибавляют каплю дифениламина в серной кислоте (0,5 г дифениламина растворяют в 100 г концентрированной серной кислоты и прибавляют 20 мл дистиллированной воды). Критерием окончания денитрации является отрицательная реакция минерализата с дифениламином. Если наблюдается синее окрашивание, реакцию проводят повторно.

Обычно процесс минерализации органических веществ заканчивается за 3-4 часа. Для разрушения объектов, богатых жирами, требуется 6-8 часов. После разрушения и охлаждения минерализат обычно бесцветен или окрашен в слегка желтый цвет и прозрачен. В присутствии окрашенных ионов (Cu^{2+} , Cr^{3+}) минерализат может быть окрашен, а при наличии ионов Pb^{2+} , Ba^{2+} (после разбавления водой) содержать осадок.

Дробный и систематический ход анализа “металлических ядов”

В химико-токсикологическом анализе для обнаружения “металлических ядов” в минерализатах применяется систематический ход анализа и дробный метод. *Систематический ход анализа* основан на последовательном выделении из растворов отдельных групп ионов, на подразделении этих групп на подгруппы и на выделении отдельных ионов из подгрупп. Систематический ход анализа позволяет выделять из растворов и определять отдельные ионы, находящиеся в сложных смесях. Однако данный метод анализа имеет ряд недостатков, основными из которых являются: длительность разделения; возможная потеря исследуемых ионов из-за большого числа отдельных операций (осаждения, растворения, фильтрования и т.д.).

Учитывая указанные недостатки систематического хода анализа, для обнаружения ионов в смесях при химико-токсикологическом анализе преимущественно используется дробный метод. *Дробный метод* основан на применении реакций, с помощью которых в любой последовательности можно обнаружить искомые ионы, при этом отпадает необходимость выделения ионов из исследуемого раствора.

Исследование дробным методом предусматривает изолирование элементов минерализацией из 100 г биологического материала. Отравления соединениями металлов происходят после поступления в организм малых количеств веществ, содержащих “металлические яды”, поэтому для обнаружения этих веществ в минерализатах требуются высокочувствительные реакции. Поскольку некоторые токсикологически важные металлы являются нормальной составной частью организма, то реакции по чувствительности должны быть такими, чтобы не давать положительного результата с ионами металлов, входящих в состав тканей организма.

Для обнаружения ионов металлов, содержащихся в минерализатах, применяют реакции образования осадков, микрокристаллоскопические и цветные реакции (табл.2). Доказательность и надежность дробных реакций достигается применением, как правило, по меньшей мере двух реакций – основной (специфичной) и дополнительной (подтверждающей).

Однако абсолютно специфичных реакций в аналитической химии достаточно мало, поэтому разработаны определенные приемы для устранения влияния посторонних ионов. Так одной из важнейших операций в дробном анализе является маскировка. *Маскировкой* называют процесс устранения влияния мешающих ионов, находящихся в сложной смеси, на обнаружение искомым ионов и их количественное определение. Маскирование – наиболее эффективный прием повышения селективности аналитических реакций, главное преимущество которого состоит в экспрессности.

Основным способом маскировки мешающих ионов является комплексообразование. Пользуясь этим способом, подбирают такой реактив, который с мешающими ионами образует прочные комплексные ионы, не способные реагировать с ионами на искомые ионы.

В дробном анализе для маскировки “металлических ядов” применяются фториды, хлориды, бромиды, иодиды, гидроксиды, цианиды, сульфиды, тиосульфат, тиомочевину, ЭДТА, уксусную, лимонную, муравьиную, винную, щавелевую кислоты, дитизон и ряд других маскирующих лигандов.

Таблица 2

**Реагенты и продукты некоторых аналитических реакций,
применяемых при обнаружении “металлических ядов”**

Ионы металлов	Реагенты	Продукты реакций
Ba^{2+}	1. KIO_3 2. $K_2Cr_2O_7$ 3. H_2SO_4 4. $Na_2C_6O_6$	1. $Ba(IO_3)_2$, бесцветные призматические кристаллы, собранные в виде сфероидов 2. $BaCrO_4$, ↓ светло-желтого цвета, растворим в минеральных кислотах и нерастворим в уксусной кислоте 3. $BaSO_4$, ↓ белого цвета, нерастворим в разбавленных кислотах 4. BaC_6O_6 , ↓ красновато-коричневого цвета
Pb^{2+}	1. H_2Dz 2. KI 3. $K_2Cr_2O_7$ 4. Na_2S или H_2S 5. H_2SO_4 6. $Cu(CH_3COO)_2$, KNO_2 7. $CsCl$, KI	1. $Pb(HDz)_2$, комплекс оранжево-красного цвета 2. PbI_2 , ↓ золотисто-желтого цвета, растворим в горячей воде, в избытке раствора KI , в уксусной кислоте 3. $PbCrO_4$, ↓ оранжево-желтого цвета, растворим в щелочах 4. PbS , ↓ черного цвета, растворим в HNO_3 5. $PbSO_4$, ↓ белого цвета, растворим в растворах щелочей и конц. H_2SO_4 и HCl 6. $K_2Cu[Pb(NO_2)_6]$, черно-коричневые кристаллы кубической формы 7. $Cs[PbI_3]$, желто-зеленые игольчатые кристаллы
Mn^{2+}	1. KIO_4 2. $(NH_4)_2S_2O_8$, HCl 3. $NaBiO_3$, HNO_3 4. Na_2S или H_2S	1. MnO_4^- , раствор красно-фиолетового цвета 2. MnO_4^{2-} , раствор красно-фиолетового или розового цвета 3. MnO_4^- , раствор красно-фиолетового цвета 4. MnS , ↓ светло-розового цвета, растворимый в разбавленных минеральных кислотах

Ионы	Реагенты	Продукты реакций
Cr^{3+}	<ol style="list-style-type: none"> 1. NaOH, H_2O_2 2. R 3. Na_2HPO_4 4. $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. H_2CrO_6, H_3CrO_8, $\text{H}_7\text{CrO}_{10}$, раствор сине-голубого цвета 2. $(\text{CrR}_2)^+$, комплекс красно-фиолетового цвета 3. CrPO_4, ↓ зеленого цвета, растворим в щелочах, нерастворим в уксусной кислоте 4. $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, раствор желто-оранжевого цвета
Ag^+	<ol style="list-style-type: none"> 1. H_2Dz 2. NaCl, HCl 3. KI 4. $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$, $\text{C}_6\text{H}_2\text{N}_3\text{O}_7\text{K}$ 5. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CH_3COOH 6. HCHO 	<ol style="list-style-type: none"> 1. AgHDz, комплекс желтого цвета 2. AgCl, ↓ белого цвета, растворим в растворах NH_4OH, KCN, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 3. AgI, ↓ желтого цвета, растворим в растворах KCN, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 4. $\text{Ag}(\text{CSN}_2\text{H}_4)_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_2\text{N}_3\text{O}_7$, желтые призматические кристаллы 5. Ag_2CrO_4, ↓ кирпично-красного цвета, растворим в растворе NH_3 6. Ag, ↓ на стенках пробирки
Cu^{2+}	<ol style="list-style-type: none"> 1. DDTK 2. NH_4OH 3. $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ или H_2S 4. $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 5. $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$ 6. $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, NH_4SCN 	<ol style="list-style-type: none"> 1. $(\text{DDTK})_2\text{Cu}$, комплекс желтого или коричневого цвета 2. $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, раствор синего цвета 3. CuS, ↓ черного цвета 4. $\text{Cu}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, ↓ красно-бурого цвета 5. $\text{Cu}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$, ↓ желто-зеленого цвета 6. $\text{Cu}(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2 \cdot (\text{SCN})_2$, комплекс изумрудно-зеленого цвета
Cd^{2+}	<ol style="list-style-type: none"> 1. DDTK 2. H_2Dz 3. Na_2S или H_2S 4. $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2$, KBr 5. $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, KBr 6. $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. $\text{Cd}(\text{DDTK})_2$, комплекс красного цвета 2. $\text{Cd}(\text{HDz})_2$, комплекс красного цвета 3. CdS, ↓ желтого цвета 4. $\text{H}_2(\text{CdBr})_4[\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{N}_2]_2$, бесцветные призматические кристаллы, собранные в виде сфероидов 5. $\text{Cd}(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2\text{Br}$, бесцветные призматические кристаллы, собранные в виде сфероидов 6. $\text{Cd}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$, бесцветные продолговатые кристаллы

Ионы	Реагенты	Продукты реакций
Zn^{2+}	1. H_2Dz 2. Na_2S или H_2S 3. $K_4[Fe(CN)_6]$ 4. $(NH_4)_2[Hg(SCN)_4]$	1. $Zn(HDz)_2$, комплекс пурпурно-красного цвета 2. ZnS , ↓ белого цвета 3. $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$, ↓ белого цвета 4. $Zn[Hg(SCN)_4]$, бесцветные клиновидные кристаллы
Sb^{3+}	1. $C_{27}H_{33}N_2Cl$ 2. $Na_2S_2O_3$, HCl 3. Na_2S или H_2S	1. $[C_{27}H_{33}N_2]^+[SbCl_6]^-$, комплекс синего или голубого цвета 2. Sb_2S_3 , ↓ оранжевого цвета 3. Sb_2S_3 , ↓ оранжевого цвета
Tl^{3+}	1. H_2Dz 2. $C_{27}H_{33}N_2Cl$	1. $TlHDz$, комплекс красного цвета 2. $[C_{27}H_{33}N_2]^+[TlCl_4]^-$, комплекс сине-голубого цвета
Bi^{3+}	1. DDTK 2. C_9H_6NOH 3. $(NH_2)_2CS$ 4. $C_{23}H_{26}O_4N_2$, KBr 5. $CsCl$, KI 6. Na_2S (или H_2S)	1. $Bi(DDTK)_3$, комплекс розового цвета 2. $[C_9H_6NHOH]^+[BiI_4]^-$, ↓ оранжево-красного цвета 3. $[Bi(SCN_2H_4)_2]_2(SO_4)_3$, раствор лимонно-желтого цвета 4. $H_2BiBr_5(C_{23}H_{26}O_4N_2)_2$, желто-зеленые кристаллы, собранные в виде сфероидов 5. $Cs[BiI_4]$, оранжево-красные кристаллы 6. Bi_2S_3 , ↓ черного цвета
Hg^{2+}	1. H_2Dz 2. CuI или KI 3. $(NH_4)_2S$ или H_2S 4. Na_2CO_3	1. $Hg(HDz)_2$, комплекс оранжево-красного цвета 2. $Cu_2[HgI_4]$, ↓ оранжево-красного цвета 3. HgS , ↓ черного цвета 4. $HgCO_3$, ↓ красно-бурого цвета

Обозначения:

R – дифенилкарбазид;

 H_2Dz – дитизон;

DDTK- диэтилдитиокарбамат;

 C_9H_6NOH – орто-оксихинолин; $C_{23}H_{26}O_4N_2$ – бруцин; $[C_{27}H_{33}N_2]Cl$ –бриллиантовый зеленый; C_5H_5N –пиридин.

Пример. Обнаружению ионов Cd^{2+} при помощи реакции с Na_2S (образуется осадок желтого цвета CdS) мешают ионы Cu^{2+} , которые с этим реактивом дают черный осадок CuS . Для маскировки ионов Cu^{2+} прибавляют цианиды, образующие бесцветный комплекс $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$, не реагирующий с сульфидами.

С целью маскировки можно также изменять валентность мешающих ионов (для меди, марганца, хрома, сурьмы, мышьяка) при помощи окислителей или восстановителей. В качестве восстановителей применяют тиосульфат натрия, гидразин, аскорбиновую кислоту, хлорид олова. Окислителями могут быть KMnO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и другие.

Пример. Ионы меди $\text{Cu}(\text{II})$ и цинка $\text{Zn}(\text{II})$ реагируют с ЭДТА с образованием устойчивых комплексов. В присутствии тиосульфат-ионов $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ионы $\text{Cu}(\text{II})$ восстанавливаются до ионов $\text{Cu}(\text{I})$, не дающих комплексов с ЭДТА.

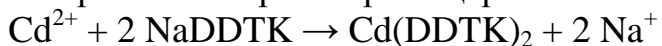
Изменение концентрации водородных ионов раствора эффективно в тех случаях, когда реагент имеет кислотный или основной характер.

Пример. Фосфаты многих металлов нерастворимы в воде. Из нейтральных растворов осаждаются совместно, например, фосфаты железа и меди. Выделение осадка $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ можно предотвратить, создав в растворе посредством ацетатного буфера pH 4-5. Таким способом можно отделить медь от железа и ряда других двухзарядных ионов металлов.

Кроме того, используют разбавление минерализата до предела чувствительности реакции во избежание обнаружения естественно содержащихся элементов.

В сочетании с вышеперечисленными приемами применяется также селективная экстракция с последующей реэкстракцией различными органическими реактивами после перевода катиона в то или иное соединение (дитизонат, диэтилдитиокарбамат) или в комплекс с красителем. Выделенный ион затем реэкстрагируется в водный слой и обнаруживается соответствующими качественными реакциями.

Пример. При взаимодействии ионов кадмия с диэтилдитиокарбаматом натрия NaDDTK образуется устойчивое комплексное соединение – диэтилдитиокарбамат этого металла $\text{Cd}(\text{DDTK})_2$. Раствор диэтилдитиокарбамата кадмия в хлороформе имеет пурпурно-красную окраску. Кроме ионов кадмия с диэтилдитиокарбаматом окрашенные комплексы образуют и катионы некоторых других металлов, для маскировки которых прибавляют раствор глицерина или сегнетовой соли.



Образовавшийся $\text{Cd}(\text{DDTK})_2$ экстрагируют хлороформом, а затем разлагают соляной кислотой. В солянокислом растворе определяют наличие ионов кадмия с помощью характерных качественных реакций.

На практике нередко возникает задача последующего определения ранее замаскированного элемента из одного анализируемого раствора. Для этого удобно использовать приемы демаскирования закомплексованного вещества. *Демаскировкой* называется процесс, в общем случае обратный маскированию и заключающийся в восстановлении способности замаскированного иона к взаимодействию с каким-либо реагентом с целью его определения тем или иным методом. Известны следующие приемы демаскирования: реакции замещения с участием катионов, более полно реагирующих с маскирующим лигандом и высвобождающих вследствие этого замаскированный ион; изменение рН раствора; изменение степени окисления маскирующего иона; разрушение или физическое удаление маскирующего агента, например, путем последовательного его перевода в труднорастворимое соединение или в фазу органического растворителя, или в газообразный продукт и т.д.

Дробный анализ можно проводить в любой последовательности, однако необходимо учитывать ограниченную специфичность отдельных реакций. Реакции перекристаллизации BaSO_4 мешает PbSO_4 . Поэтому сначала проводят исследование на Pb^{2+} и, если результат качественного анализа окажется положительным, ион свинца отделяют, а затем проводят исследование на Ba^{2+} . Чувствительность реакций на хром и марганец снижается при большом количестве хлоридов, поэтому исследование на Mn^{2+} и Cr^{3+} предшествует анализу на Ag^+ , для выделения которого производится осаждение в виде AgCl раствором HCl .

Обнаружению сурьмы реакцией образования ее сульфида мешает Cu^{2+} (оранжевая окраска SbS_3 или SbS_5 будет маскироваться черной окраской CuS), поэтому сначала проводят исследование на Cu^{2+} , а затем на Sb^{2+} . Исследованию минерализата на As^{3+} должно предшествовать исследование на Sb^{3+} , так как летучий SbH_3 может мешать обнаружению AsH_3 .

На проведение качественного анализа дробным методом расходуется около $\frac{1}{2}$ части минерализата (приблизительно 100 мл), что соответствует навеске 50 г. Вторая половина минерализата используется для количественного определения обнаруженного элемента.

Вопросы для самоконтроля

1. Чем отличается дробный анализ от систематического хода анализа “металлических ядов”?
2. В чем заключается прием маскировки катионов металлов, мешающих обнаружению исследуемых ионов?
3. Какие основные реактивы применяются для маскировки отдельных катионов в химико-токсикологическом анализе?
4. Для каких целей применяются дитизон и диэтилдитиокарбаматы в химико-токсикологическом анализе?

5. Как разделить сульфаты бария и свинца, находящиеся в минерализатах, и обнаружить эти катионы после разделени?
6. С помощью каких реакций проводится идентификация соединений марганца и хрома, находящихся в минерализате? Как проводят обнаружение хромат-ионов в присутствии перманганат - ионов?
7. Как можно обнаружить соединения серебра, находящиеся в минерализате?
8. Какие реакции лежат в основе качественного анализа минерализата на наличие соединений цинка и меди?
9. На основании каких реакций доказываются соединения сурьмы дробным методом? Как отличить соединения сурьмы от соединений таллия в химико-токсикологическом анализе?
10. Какие качественные реакции используются для обнаружения соединений кадмия и висмута?

Лабораторная работа №2

ВЫДЕЛЕНИЕ ИОНОВ “МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ” ИЗ МИНЕРАЛИЗАТА С ПОМОЩЬЮ ХЕЛАТООБРАЗУЮЩИХ РЕАГЕНТОВ

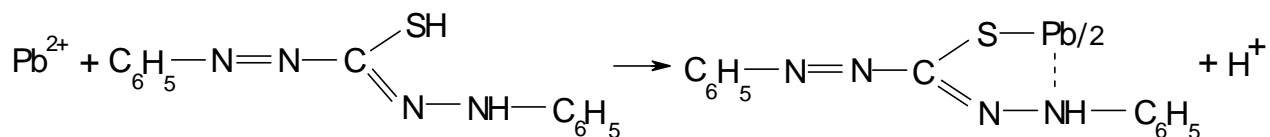
Цель работы: освоение аналитических приемов выделения ионов металлов с использованием дитизона и солей диэтилдитиокарбаминовой кислоты.

Сущность работы.

В химико-токсикологическом анализе для разделения и выделения ионов “металлических ядов” используют преимущественно дитизон или соли диэтилдитиокарбаминовой кислоты.

Выделение ионов свинца Pb^{2+} из минерализата основано на реакции с дитизоном. Дитизон (дифенилдитиокарбазон) практически не растворим в воде, но хорошо растворяется во многих органических растворителях (хлороформе, четыреххлористом углероде и т.д.). Растворы дитизона в хлороформе обладают дихроматизмом (темно-красная окраска раствора дитизона в плотных слоях при разбавлении переходит в ярко-зеленую).

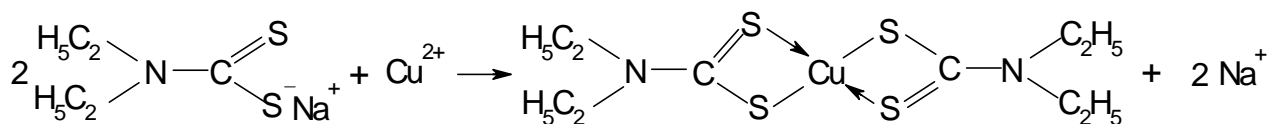
При прибавлении к раствору, содержащему ионы свинца, хлороформного раствора дитизона образуется однозамещенный дитизонат свинца $Pb(HDz)_2$, хлороформный раствор которого имеет оранжево-красную окраску:



В молекуле дитизона содержится два атома водорода, которые способны замещаться на ионы металлов. Наличие в молекуле дитизона группы —C—S увеличивает подвижность атома водорода в —S—H -группе, т.е. увеличивает кислотные свойства этого реактива. Подвижность атома водорода в —N—H -группе дитизона значительно меньшая. Поэтому дитизон в кислых растворах с катионами металлов образует только однозамещенные соединения. Замещение второго атома водорода в молекуле дитизона может происходить только в сильнощелочной среде.

Для маскировки мешающих ионов прибавляют гидроксилламин. Образовавшийся в хлороформной фазе однозамещенный дитизонат свинца разлагают азотной кислотой. При этом образуется нитрат свинца, который переходит в водную фазу, а дитизон остается в хлороформе, окрашивая его в зеленый цвет.

Для выделения ионов Cd^{2+} , Zn^{2+} , Bi^{3+} из минерализатов применяют натриевую соль диэтилдитиокарбаминовой кислоты, которая образует с катионами металлов внутрикомплексные соединения (диэтилдитиокарбаматы):

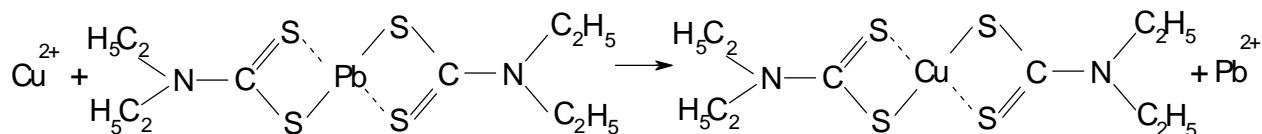


Для выделения диэтилдитиокарбаматов из растворов применяют метод экстракции. При этом в ряде случаев пользуются маскирующими средствами.

После разрушения биологического материала с помощью концентрированных серной и азотной кислот в минерализате медь находится в виде сульфата. Применение диэтилдитиокарбамата натрия в качестве реактива для перевода ионов меди Cu^{2+} в окрашенное соединение связано с некоторыми неудобствами. Этот реактив нерастворим в органических растворителях, кроме того в кислой среде данный реактив разлагается на диэтиламин и сероуглерод. Определению меди с помощью диэтилдитиокарбамата натрия мешают ионы железа(III), висмута, марганца, кобальта, никеля, хрома и другие, которые с этим реактивом образуют окрашенные соединения.

Учитывая указанные недостатки диэтилдитиокарбамата натрия, в качестве реактива для выделения ионов меди Cu^{2+} используют диэтилдитиокарбамат свинца, который растворяется в органических растворителях, не разлагается в кислой среде и дает окраску с меньшим числом ионов, чем диэтилдитиокарбамат натрия.

В результате реакции образуется диэтилдитиокарбамат меди, раствор которого в хлороформе имеет бурую или желто-коричневую окраску:



В соответствии с правилом “рядов” Тананаева: Hg, Ag, Cu, Pb, Bi, Cd, Sb, Zn, Mn, каждый предыдущий металл, находящийся в водном растворе (минерализате), вытесняет последующий из раствора карбамата, растворенного в хлороформе. Диэтилдитиокарбамат меди экстрагируют хлороформом, а затем разлагают хлоридом ртути(II). В реэкстракте проводят определение ионов меди.

Материалы и оборудование:

1. Делительная воронка.
2. Серная кислота, H_2SO_4 , 1%-ный раствор.
3. Ацетат аммония, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 10%-ный раствор.
4. Гидроксиламмония гидрохлорид, $(\text{NH}_3\text{OH})\text{Cl}$, 10%-ный раствор.
5. Аммиак, NH_3 , 25%-ный водный раствор.
6. Хлороформ, CHCl_3 .
7. Дитизон, $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}=\text{NC}(\text{S})\text{NHNHC}_6\text{H}_5$, 0,01%-ный раствор дитизона в хлороформе.
8. Цианид натрия, NaCN , 0,5%-ный раствор.
9. Азотная кислота, HNO_3 , 1 М раствор.
10. 2,4-динитрофенол, $(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{OH}$, 0,1%-ный спиртовой раствор.
11. Диэтилдитиокарбамат свинца, $((\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}_2)_2\text{Pb}$, хлороформный раствор.
12. Соляная кислота, HCl , 1 и 6 М растворы.
13. Хлорид ртути(II), HgCl_2 , 1%-ный раствор.
14. Сегнетова соль, $\text{KOOC}(\text{CH}_2\text{OH})_2\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 10%-ный раствор.
15. Тиосульфат натрия, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, насыщенный раствор.
16. Нильский голубой, 0,1%-ный раствор.
17. Гидроксид натрия, NaOH , 0,3 ; 2,5 и 3 М растворы.
18. Серная кислота, H_2SO_4 , 2 М раствор;
19. Диэтилдитиокарбамат натрия, $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCS}(\text{S})\text{Na}$, 1%-ный раствор в смеси воды и этилового спирта (3:1).

20. Глицерин, $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$, 10%-ный раствор.
21. Трилон Б, $(\text{HOOCCH}_2)_2\text{NC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, сухая соль.
22. Азотная кислота, HNO_3 , 4 М раствор.

Выполнение работы.

1. Выделение ионов свинца Pb^{2+} из минерализата.

После минерализации с помощью концентрированных серной и азотной кислот барий и свинец находятся в виде осадка сульфата бария и сульфата свинца, окрашенного в белый цвет. Осадок может быть также окрашен за счет соосаждения катионов хрома, железа, серебра.

Осадок отфильтровывают, промывают 5 мл 1%-ного раствора серной кислоты H_2SO_4 , а затем 5 мл воды (для удаления примесей сопутствующих ионов). Промывные воды присоединяют к основному фильтрату и объем жидкости доводят до 200 мл. Осадок обрабатывают горячим (кипящим) раствором ацетата аммония $\text{CH}_3\text{COONH}_4$. При этом осадок сульфата бария остается на фильтре, а осадок сульфата свинца переходит в раствор.



Исследуемый раствор, содержащий ионы свинца, вносят в делительную воронку, прибавляют 1 мл 10%-ного раствора гидроксид-амин гидрохлорида и раствор аммиака до рН 8 (по универсальному индикатору). После этого в делительную воронку вносят 3 мл хлороформа, несколько капель 0,01 %-ного раствора дитизона в хлороформе и взбалтывают. При наличии ионов свинца в исследуемом растворе зеленая окраска хлороформного слоя переходит в красную или оранжево-красную (образуется дитизонат). Хлороформный слой отделяют от водной фазы, к которой снова прибавляют 3 мл хлороформа и несколько капель 0,01%-ного раствора дитизона в хлороформе. Содержимое делительной воронки взбалтывают, а затем отделяют хлороформный слой. Взбалтывание водной фазы с новыми порциями хлороформа (по 3 мл) и 0,01%-ным раствором дитизона проводят до тех пор, пока хлороформный слой не перестанет изменять зеленую окраску на красную или оранжево-красную.

Окрашенные хлороформные вытяжки, содержащие дитизонат свинца, соединяют и переносят в делительную воронку, в которую для промывания этих вытяжек прибавляют 10 мл смеси, состоящей из равных объемов 0,5%-ного раствора цианида натрия NaCN и раствора аммиака, а затем взбалтывают. При наличии ионов свинца хлороформный слой сохраняет оранжево-красную окраску.

Для подтверждения наличия дитизоната свинца в хлороформном слое его отделяют от водной фазы и переносят в делительную воронку, в которую

прибавляют 2 мл 1 М раствора азотной кислоты HNO_3 и взбалтывают. При этом в водную фазу переходят ионы свинца, а дитизон остается в хлороформном слое, окрашивая его в зеленый цвет. От хлороформного слоя отделяют водную фазу и определяют в ней наличие ионов свинца с помощью соответствующих качественных реакций.

2. Выделение ионов Cd^{2+} из минерализата.

В колбу вносят 10 мл минерализата, прибавляют 2 мл 10%-ного водного раствора глицерина, 4 мл 10%-ного раствора сегнетовой соли (для маскировки) и 2-3 капли 0,1%-ного спиртового раствора нильского голубого. Затем прибавляют 2,5 М раствор гидроксида натрия до появления розовато-красной окраски раствора. Содержимое колбы перемешивают и переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 3 мл 1%-ного раствора диэтилдитиокарбамата натрия в смеси этилового спирта и воды (1:3) и 10 мл хлороформа. Содержимое воронки энергично взбалтывают в течение 30 с. После разделения фаз отделяют хлороформный слой, переносят его в делительную воронку, прибавляют 10 мл воды и взбалтывают. Затем водную фазу отделяют, а к хлороформному слою прибавляют 2 мл 1 М раствора соляной кислоты. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 30 с, а затем от хлороформного слоя отделяют водную фазу, в которой определяют наличие ионов кадмия.

3. Выделение ионов цинка Zn^{2+} из минерализата.

В делительную воронку вносят 10 мл минерализата, 4 мл 10%-ного раствора сегнетовой соли и 1 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия. К этой смеси добавляют несколько капель 0,1%-ного раствора нильского голубого, а затем по каплям добавляют 2,5 М раствор гидроксида до появления розовой окраски. К содержимому делительной воронки прибавляют 2 М раствор серной кислоты до рН 8,5, 3 мл 1%-ного раствора диэтилдитиокарбамата натрия в смеси воды и этилового спирта (3:1) и 5 мл хлороформа. Содержимое делительной воронки интенсивно взбалтывают, а затем хлороформный слой отделяют от водной фазы и переносят в другую делительную воронку. К хлороформному слою прибавляют 10 мл воды и взбалтывают. Водную фазу отделяют от хлороформного слоя, к которому прибавляют 3 мл 1 М раствора соляной кислоты, а затем взбалтывают в течение 30 с. После взбалтывания от хлороформной фазы отделяют водную фазу, в которой определяют наличие ионов цинка.

4. Выделение ионов висмута Bi^{3+} из минерализата.

В делительную воронку вносят 10 мл минерализата, 0,1 г комплексона III и несколько капель 0,1%-ного спиртового раствора нильского голубого. К данной смеси прибавляют 3 М раствор гидроксида натрия до рН 12 (до

перехода синей окраски в розовую). После доведения содержимого делительной воронки до необходимого рН к жидкости прибавляют еще 2-3 мл 3 М раствора гидроксида натрия, а затем в делительную воронку вносят 3 мл 1%-ного раствора диэтилдитиокарбамата натрия (в смеси равных объемов этилового спирта и воды) и 5 мл хлороформа. Содержимое воронки взбалтывают в течение 30 с, а затем хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку. Для промывания хлороформного слоя к нему прибавляют 5 мл 0,3 М раствора гидроксида натрия и взбалтывают. После взбалтывания хлороформного слоя с раствором щелочи отделяют водную фазу. Хлороформный слой, содержащий диэтилдитиокарбамат висмута, переносят в делительную воронку, прибавляют 3 мл 4 М раствора азотной кислоты. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 1 мин и отделяют хлороформный слой, который в дальнейшем не исследуют. Водную фазу подвергают исследованию на наличие ионов висмута.

5. Выделение ионов меди Cu^{2+} из минерализата. К 10 мл минерализата прибавляют 2-3 капли индикатора (бесцветный 0,1%-ный спиртовой раствор, 2,4-динитрофенола), а затем небольшими порциями прибавляют 25%-ный раствор аммиака до рН 3 (до перехода окраски индикатора в желтую). Жидкость переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 5 мл хлороформного раствора диэтилдитиокарбамата свинца и взбалтывают. При этом хлороформный слой приобретает желтую или коричневую окраску. Хлороформный слой отделяют от водной фазы и переносят его в другую делительную воронку, в которую прибавляют 6 М раствор соляной кислоты HCl (для разрушения диэтилдитиокарбамата свинца), взбалтывают и отделяют водную фазу. К хлороформному слою по каплям прибавляют 1%-ный раствор хлорида ртути(II) $HgCl_2$, содержимое делительной воронки взбалтывают до тех пор, пока не наступит полное обесцвечивание хлороформного слоя. Затем, не отделяя хлороформный слой, в делительную воронку вносят 1,5-2,0 мл воды и интенсивно взбалтывают. Через 2-3 мин хлороформный слой отделяют от водной фазы, которую исследуют на наличие ионов меди.

Лабораторная работа № 3

ИССЛЕДОВАНИЕ МИНЕРАЛИЗАТА ПОСЛЕ ИЗОЛИРОВАНИЯ "МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ" ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА С ПОМОЩЬЮ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ СЕРНОЙ И АЗОТНОЙ КИСЛОТ

Цель работы: обнаружение ионов “металлических ядов” в минерализате дробным методом.

Материалы и оборудование:

1. Пробирки, штативы и держатели для пробирок.
2. Делительные воронки.
3. Предметные стекла.
4. Микроскоп.
5. Горелка.
6. Исследуемый раствор минерализата.
7. Реактивы для обнаружения катионов металлов.

Ионы свинца Pb^{2+} :

- иодид калия, KI, 5%-ный раствор;
- дихромат калия, $K_2Cr_2O_7$, 5%-ный раствор;
- серная кислота, H_2SO_4 , 10%-ный раствор;
- ацетат меди, $Cu(CH_3COO)_2$, 1%-ный раствор;
- уксусная кислота, CH_3COOH , 30%-ный раствор;
- нитрит калия, KNO_2 , сухая соль.

Ионы бария Ba^{2+} :

- серная кислота, H_2SO_4 , 1 М раствор;
- соляная кислота, HCl, 5 М раствор;
- иодат калия, KIO_3 , сухая соль;
- дихромат калия, $K_2Cr_2O_7$, 5%-ный раствор;
- ацетат натрия, CH_3COONa ;
- родизонат натрия, $Na_2C_6O_6$, 0,2%-ный раствор;
- соляная кислота, HCl, 0,1 М раствор.

Ионы марганца Mn^{2+} :

- дигидрофосфат натрия, NaH_2PO_4 , насыщенный раствор;
- периодат калия, KIO_4 , сухая соль;
- нитрат серебра, $AgNO_3$, 10%-ный раствор;
- персульфат аммония, $(NH_4)_2S_2O_8$, сухая соль.

Ионы хрома Cr^{3+} :

- гидроксид натрия, NaOH, 30%-ный раствор;
- нитрат серебра, $AgNO_3$, 10%-ный раствор;
- персульфат аммония, $(NH_4)_2S_2O_8$, сухая соль;

- дигидрофосфат натрия, NaH_2PO_4 , насыщенный раствор;
- уксусноэтиловый эфир, $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$;
- пероксид водорода, H_2O_2 , 5%-ный раствор;
- гидроксид натрия, NaOH , 5%-ный раствор;
- дифенилкарбазид, $(\text{C}_6\text{H}_5\text{NHNH})_2\text{CO}$, 1,00 и 0,25%-ные растворы в смеси этилового спирта и ацетона (1:1);
- серная кислота, H_2SO_4 , 1 М раствор;
- азид натрия, NaN_3 , сухая соль.

Ионы серебра Ag^+ :

- серная кислота, H_2SO_4 , 4 М раствор;
- соляная кислота, HCl , 0,5 М раствор;
- дитизон, $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}=\text{NC}(\text{S})\text{NHNHC}_6\text{H}_5$, 0,01%-ный раствор в хлороформе;
- хлорид натрия, NaCl , сухая соль;
- аммиак, NH_3 , 25%-ный водный раствор;
- азотная кислота, HNO_3 , 1 М раствор;
- иодид калия, KI , насыщенный раствор;
- тиомочевина, $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$, насыщенный раствор;
- пикрат калия, $\text{C}_6\text{H}_2\text{N}_3\text{O}_7\text{K}$, насыщенный раствор.

Ионы меди Cu^{2+} :

- аммиак, NH_3 , 10%-ный водный раствор;
- гексацианоферрат(II) калия, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 5%-ный раствор;
- пиридин-роданидный реактив ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, 50%-ный водный раствор + NH_4SCN , 20%-ный водный раствор);
- хлороформ, CHCl_3 .

Ионы цинка Zn^{2+} :

- тиосульфат натрия, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, насыщенный раствор;
- хлороформ, CHCl_3 ;
- дитизон, $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}=\text{NC}(\text{S})\text{NHNHC}_6\text{H}_5$, 0,01%-ный раствор в хлороформе;
- гидроксид калия, KOH , 5%-ный раствор;
- гексацианоферрат(II) калия, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 5%-ный раствор;
- сульфид натрия, Na_2S , 5%-ный раствор;
- тетрароданомеркурат аммония, $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$;
- уксусная кислота, CH_3COOH , 10%-ный раствор.

Ионы кадмия Cd^{2+} :

- гидроксид натрия, NaOH , 2,5 М раствор;
- сульфид натрия, Na_2S , 5%-ный раствор;
- пиридин, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$;
- бромид калия, KBr , 5%-ный раствор;
- тетрароданомеркурат аммония, $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$;
- уксусная кислота, CH_3COOH , 10%-ный раствор.

Ионы сурьмы Sb^{3+} :

- серная кислота, H_2SO_4 , 2 М раствор;
- соляная кислота, HCl , 5 М раствор;
- нитрит натрия, $NaNO_2$, 5%-ный раствор;
- малахитовый зеленый, $C_{23}H_{25}N_2Cl$, 0,5%-ный раствор в смеси вода+этиловый спирт (3:1);
- мочевины, $(NH_2)_2CO$, насыщенный раствор;
- сульфат натрия, Na_2SO_4 , сухая соль;
- толуол, $C_6H_5CH_3$;
- соляная кислота, HCl , 2 М раствор;
- тиосульфат натрия, $Na_2S_2O_3$;
- сульфид натрия, Na_2S , 5%-ный раствор.

Ионы висмута Bi^{3+} :

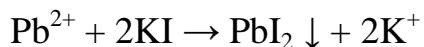
- аскорбиновая кислота, $C_6H_8O_6$, сухая соль;
- сегнетова соль, $KOOC(CHOH)_2COONa \cdot 4H_2O$;
- иодид калия, KI , 5%-ный раствор;
- раствор крахмала;
- тиосульфат натрия, $Na_2S_2O_3$, 10%-ный раствор;
- ацетон, CH_3COCH_3 ;
- амилацетат, $CH_3COOC_5H_{11}$;
- 8-оксихинолин (оксин), C_9H_6NOH , 2%-ный раствор в 2 М растворе HCl ;
- тиомочевина, $(NH_2)_2CS$, насыщенный раствор;
- сульфид натрия, Na_2S , 5%-ный раствор;
- соляная кислота, HCl , 1 М раствор.

Выполнение работы.**Обнаружение катионов свинца**

Ход анализа на наличие ионов свинца Pb^{2+} зависит от величины осадка сульфата свинца $PbSO_4$, находящегося в минерализате. Выделение ионов свинца из осадка проводят как описано в лабораторной работе №2.

I. Исследование относительно больших осадков сульфата свинца (свыше 2 мг вещества).

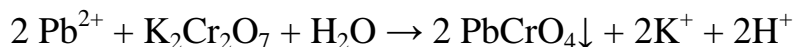
Реакция с иодидом калия. В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора и несколько капель 5%-ного раствора иодида калия KI . При наличии ионов свинца выпадает желтый осадок PbI_2 , который растворяется при нагревании и вновь появляется в виде желтых пластинок при охлаждении раствора (реакция “золотого дождя”). При выполнении этой реакции следует избегать избытка реактива, в котором растворяется иодид свинца и образуется $K_2[PbI_4]$.



Предел обнаружения: 60 мкг свинца в пробе.

Мешают катионы Cu^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Bi^{3+} , Fe^{3+} .

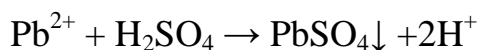
Реакция с дихроматом калия. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 3–5 капель 5%-ного раствора дихромата калия $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Образование оранжево-желтого осадка хромата свинца указывает на наличие ионов свинца в растворе.



Предел обнаружения: 2 мкг свинца в пробе.

Мешают катионы, образующие нерастворимые хроматы (Ba^{2+} , Hg^{2+} , Bi^{3+} и другие).

Реакция с серной кислотой. В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора и прибавляют 5 капель 10%-ного раствора серной кислоты. Появление белого осадка сульфата свинца указывает на наличие ионов свинца в растворе.



Предел обнаружения 0,2 мг ионов свинца в пробе.

Мешают катионы, образующие малорастворимые сульфаты (Ba^{2+} , Hg_2^{2+} , Ca^{2+} и другие).

II. Исследование малых осадков сульфата свинца (до 2 мг).

Реакция с ацетатом меди и нитритом калия. На предметное стекло наносят несколько капель водной фазы и выпаривают досуха на небольшом пламени. На сухой остаток наносят 1–2 капли 1%-ного раствора ацетата меди $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ и снова выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 2–3 капли 30%-ного раствора уксусной кислоты CH_3COOH , а затем на край его помещают несколько кристалликов нитрита калия KNO_2 . Образование черных или коричневых кристаллов, имеющих форму куба, указывает на наличие ионов свинца в водной фазе.



Предел обнаружения: 0,01 мкг свинца в пробе.

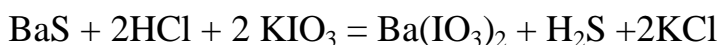
Обнаружение катионов бария

Оставшийся на фильтре осадок используют для исследования его на наличие ионов бария. С этой целью производят перекристаллизацию этого осадка в концентрированной серной кислоте, переводят осадок в сульфид бария, а затем в иодат бария.

Перекристаллизация осадка сульфата бария. Часть исследуемого осадка наносят на предметное стекло и слегка подсушивают. Затем к осадку прибавляют 2-3 капли концентрированной серной кислоты и нагревают до выделения белых паров SO_3 . При нагревании серная кислота не должна растекаться на предметном стекле. Если в осадке находится сульфат бария, то через 10-20 мин после охлаждения смеси на предметном стекле появляются бесцветные кристаллы, имеющие форму прямоугольников с вытянутыми углами или форму линз, собранных в виде крестов.

Предел обнаружения: 0,05 мкг бария.

Реакция восстановления сульфата бария. На предметное стекло наносят несколько капель 5 М раствора соляной кислоты. Затем с помощью платиновой петли забирают часть исследуемого осадка и нагревают его в восстановительной части пламени газовой горелки. При этом сульфат бария восстанавливается и образуется сульфид бария BaS . В результате этого пламя горелки окрашивается в зеленый цвет. Нагретую платиновую петлю с осадком время от времени опускают на несколько секунд в раствор соляной кислоты, находящейся на предметном стекле. Нагревание платиновой петли с осадком и смачивание в соляной кислоте производят до тех пор, пока не наступит ослабление интенсивности окрашивания пламени. После этого в соляную кислоту опускают кристаллик иодата калия KIO_3 . При этом образуются бесцветные призматические кристаллы иодата бария $\text{Ba}(\text{IO}_3)_2$, собранные в виде сфероидов.

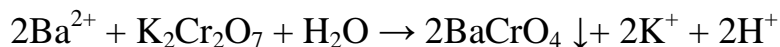


Предел обнаружения: 0,03 мкг бария в пробе.

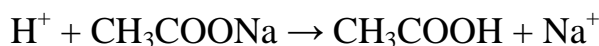
Для обнаружения ионов бария в его соединениях применяют реакции с дихроматом калия, серной кислотой, родизонатом бария и др.

Реакция с дихроматом калия. В пробирку вносят 5 капель исследуемого раствора, прибавляют 5 капель дихромата калия $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и 4-5 капель ацетата натрия CH_3COONa . Образуется светло-желтый осадок

хромата бария, растворимый в минеральных кислотах и нерастворимый в уксусной кислоте.



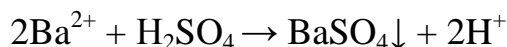
В связи с растворимостью осадка хромата бария в минеральных кислотах прибавляют ацетат натрия:



Образовавшаяся в результате этой реакции уксусная кислота не растворяет осадок хромата бария.

Мешают катионы Ag^+ , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} .

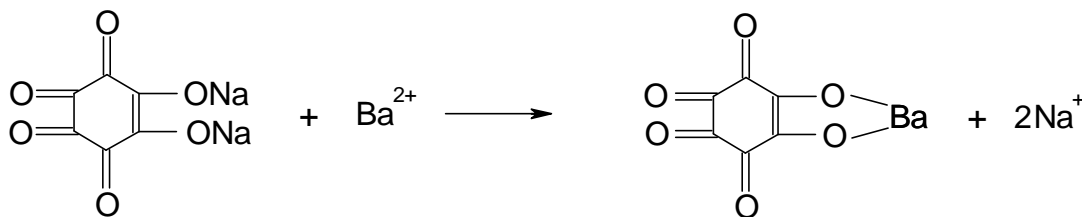
Реакция с серной кислотой. В пробирку вносят 2-3 капли минерализата, прибавляют по каплям раствор серной кислоты. При наличии ионов бария выпадает белый осадок сульфата бария.



Предел обнаружения 10 мкг бария в пробе.

Мешают ионы Ca^{2+} , Sr^{2+} , Pb^{2+} .

Реакция с родизонатом натрия. На фильтровальную бумагу наносят каплю раствора анализируемого вещества и прибавляют каплю 0,2%-ного водного раствора родизоната натрия. При этом на бумаге появляется интенсивное пятно красновато-коричневого цвета. От прибавления капли разбавленной соляной кислоты пятно родизоната бария приобретает ярко-красную окраску. Красновато-коричневое пятно родизоната стронция исчезает, так как осадок родизоната стронция растворяется в соляной кислоте.



Предел обнаружения: 0,25 мкг бария в пробе.

Мешают катионы Pb^{2+} .

Исследование минерализата после отделения осадка (BaSO₄, PbSO₄)

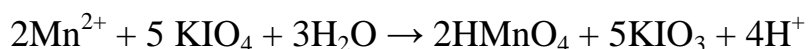
Минерализат после отделения осадка, содержащего BaSO₄, PbSO₄, подвергается качественному и количественному анализу на соединения Mn²⁺, Cr³⁺, Ag⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Sb³⁺, Bi³⁺, Zn²⁺.

Исследование обычно начинают с ионов Mn²⁺ и Cr³⁺. В основу обнаружения и определения этих катионов положены реакции окисления-восстановления.

Обнаружение катионов марганца

Ионы марганца, содержащиеся в минерализатах, определяют с помощью реакций с периодатом калия и персульфатом аммония. После окисления ионов марганца этими реактивами образуются перманганат-ионы, имеющие красно-фиолетовую окраску. Обе реакции являются специфичными для обнаружения ионов марганца, так как катионы других металлов при окислении указанными реактивами не дают фиолетовой окраски.

Реакция с периодатом калия KIO₄. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды, 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия NaH₂PO₄ и 0,2 г периодата калия KIO₄. При наличии ионов марганца в минерализате после нагревания пробирки на кипящей водяной бане в течение 20 мин раствор приобретает красно-фиолетовую или розовую окраску.



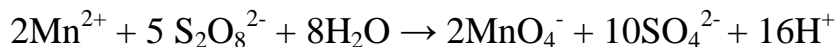
В сильно разбавленных растворах соединений марганца может образоваться темно-красный осадок Mn(IO₄)₂. В присутствии фосфатов этот осадок не образуется, а происходит окисление ионов Mn²⁺ до MnO₄⁻.

Предел обнаружения: 0,1 мкг марганца в 1 мл.

Граница обнаружения: 0,02 мг марганца в 100 г биологического материала.

Реакция с персульфатом аммония. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды, 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия NaH₂PO₄. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 5-6 мин. К горячему раствору прибавляют 1 каплю 10%-ного раствора нитрата серебра AgNO₃ и 0,5 г персульфата аммония (NH₄)₂S₂O₈. Смесь вновь

нагревают в течение нескольких минут. При наличии ионов марганца в минерализате появляется красно-фиолетовая или розовая окраска.



Предел обнаружения: 0,1 мкг марганца в 1 мл.

Граница обнаружения: 0,1 мг марганца в 100 г биологического материала.

Обнаружение катионов хрома

После разрушения биологического материала серной и азотной кислотами в полученном минерализате хром находится в основном в трехвалентном состоянии. Для обнаружения ионов хрома в минерализате применяют реакцию образования надхромовой кислоты и реакцию с дифенилкарбазидом.

Реакция образования надхромовой кислоты. Ионы хрома Cr^{3+} окисляют при помощи персульфата аммония в присутствии катализатора (солей серебра) до дихромат-ионов. После прибавления пероксида водорода к дихромату образуется надхромовая кислота, имеющая голубую или сине-голубую окраску. Этой кислоте приписывают несколько формул: H_2CrO_6 , H_3CrO_8 , $\text{H}_7\text{CrO}_{10}$ и другие.

Чувствительность реакции образования надхромовой кислоты понижается в присутствии ионов железа Fe^{3+} и сурьмы Sb^{3+} , для маскировки которых прибавляют фосфаты. Надхромовая кислота быстро разлагается в водных растворах, поэтому из водных растворов ее экстрагируют органическими растворителями (этиловым эфиром, этилацетатом), в которых надхромовая кислота более устойчива, чем в воде.

В пробирку вносят 5 мл минерализата, по каплям прибавляют 30%-ный раствор едкого натра NaOH до pH 7. Затем в пробирку вносят еще 1 мл минерализата и содержимое пробирки взбалтывают. После этого в пробирку вносят 1-2 капли 10%-ного раствора нитрата серебра AgNO_3 , 0,5 г персульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, и нагревают смесь на кипящей водяной бане в течение 20 мин. Затем содержимое пробирки охлаждают в холодной воде в течение 10-15 мин. К охлажденной жидкости добавляют 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия и проверяют pH среды. При необходимости доводят pH до 1,5-1,7. После этого в пробирку вносят уксусноэтиловый эфир, толщина слоя которого должна быть около 0,5-0,6 см, и 2-3 капли 25%-ного раствора пероксида водорода. Содержимое пробирки энергично встряхивают.

При наличии ионов хрома Cr^{3+} в минерализате слой органического растворителя приобретает окраску от голубой до синей.

Образование надхромовой кислоты можно представить следующими уравнениями:



Реакция специфична для соединений хрома.

Предел обнаружения: 2 мкг хрома в 1 мл.

Граница обнаружения: 0,2 мг хрома в 100 г биологического материала.

Реакция с дифенилкарбазидом. При выполнении этой реакции ионы хрома Cr^{3+} , находящиеся в минерализате, окисляют персульфатом аммония в присутствии катализатора (ионов серебра) до дихромат-ионов (Cr^{6+}). Чувствительность этой реакции понижают ионы Fe^{3+} , Sb^{3+} . Для маскировки мешающих ионов прибавляют фосфаты.

В пробирку вносят 1 мл минерализата, к которому прибавляют 4 мл воды, 1 каплю 10%-ного раствора нитрата серебра AgNO_3 и 0,5 г персульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин, затем в пробирку вносят 1 мл насыщенного раствора дигидрофосфата натрия NaH_2PO_4 и по каплям добавляют 5%-ный раствор едкого натра до pH 1,5-1,7. После этого добавляют 1 мл 0,25%-ного раствора дифенилкарбазида в смеси этилового спирта и ацетона (1:1) и содержимое пробирки взбалтывают. При наличии ионов хрома в минерализате раствор приобретает розовую или красно-фиолетовую окраску (реакцию см. лабораторная работа №4).

Предел обнаружения: 0,002 мкг хрома в 1 мл..

Граница обнаружения: 0,1 мг хрома в 100 г биологического материала.

Мешают перманганат-ионы MnO_4^- .

Обнаружение хромат-ионов в присутствии перманганат-ионов. Обнаружению хромат-ионов при помощи реакции с дифенилкарбазидом мешают перманганат-ионы, имеющие собственную окраску. Поэтому перед выполнением этой реакции перманганат-ионы восстанавливают при помощи азиды натрия NaN_3 . Хромат-ионы с азидом натрия практически не реагируют. Несколько кристалликов азиды натрия достаточно для быстрого восстановления перманганат-ионов.

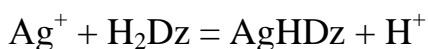
В углубление на капельной пластинке вносят каплю исследуемого раствора, прибавляют каплю концентрированной серной кислоты и несколько кристалликов азиды натрия. Смесь перемешивают стеклянной палочкой до

исчезновения окраски перманганат-ионов. Затем прибавляют каплю 1%-ного спиртового раствора дифенилкарбазида. В присутствии хроматов появляется сине-фиолетовое или красное окрашивание.

Предел обнаружения: 0,5 мкг хромат-ионов в пробе.

Обнаружение катионов серебра

Реакция с дитизоном (предварительное исследование). В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, 1 мл 4 М раствора серной кислоты и 3 мл 0,01%-ного раствора дитизона в хлороформе. После встряхивания содержимого делительной воронки хлороформный слой приобретает желтую окраску. Если в минерализате содержится незначительное количество ионов серебра, то желтая окраска AgHDz маскируется зеленой окраской избытка дитизона. Для удаления избытка дитизона хлороформный слой отделяют от водной фазы и взбалтывают с 5 мл раствора аммиака. При этом аммониевая соль дитизона переходит в водную, а хлороформный слой, содержащий дитизонат серебра, имеет желтую окраску. Затем от водной фазы отделяют хлороформный слой, который взбалтывают с 5 мл 0,5 М раствора соляной кислоты. При этом дитизонат серебра разлагается. Освободившийся дитизон остается в хлороформном слое, окрашивая его в зеленый цвет.

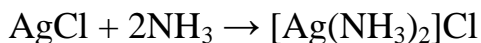
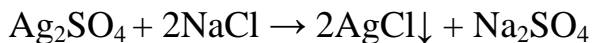


Предел обнаружения: 0,04 мкг серебра в 1 мл.

Граница обнаружения: 0,05 мг серебра в 100 г биологического материала.

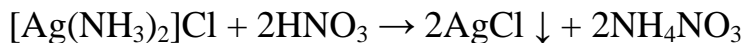
При положительном результате реакции дитизона производят дальнейшее обнаружение серебра при помощи соответствующих качественных реакций.

После разрушения биологического материала серебро находится в минерализате в виде сульфата серебра. К минерализату добавляют 0,5 г NaCl , нагревают, фильтруют. Осадок растворяют в 25%-ном растворе аммиака.



Полученный при этом аммиакат серебра $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ используют далее для качественного анализа.

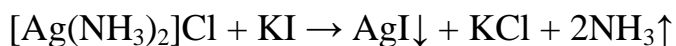
Реакция с азотной кислотой. К 0,1–0,5 мл раствора, содержащего аммиакат серебра, добавляют азотную кислоту до pH 1. Образование белого осадка указывает на наличие ионов серебра в растворе:



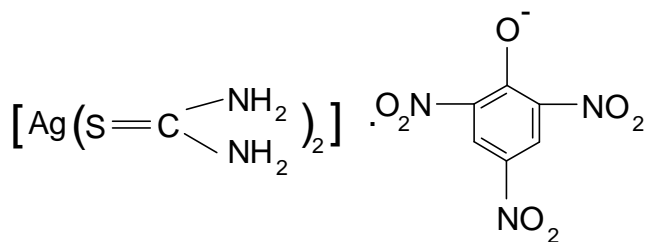
Предел обнаружения: 0,1 мкг серебра в 1 мл.

Граница обнаружения: 1 мг серебра в 100 г биологического материала.

Реакция с иодидом калия. К 0,5 мл раствора, содержащего аммиакат серебра, прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора иодида калия KI. Появление мути или желтого осадка AgI указывает на наличие серебра в исследуемом растворе.



Реакция с тиомочевинной и пикратом калия. На предметное стекло наносят 1–2 капли раствора, содержащего аммиакат серебра, и выпаривают досуха. На сухой остаток наносят несколько капель насыщенного раствора тиомочевинной $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$, а затем – каплю насыщенного раствора пикрата калия. Образование желтых призматических кристаллов или сростков из них указывает на наличие серебра в исследуемой пробе:



Предел обнаружения: 0,1 мкг серебра в пробе.

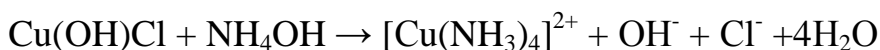
Граница обнаружения: 0,05 мг серебра в 100 г биологического материала.

Обнаружение катионов меди

В химико-токсикологическом анализе обнаружение ионов меди основано на выделении их из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата, который экстрагируют хлороформом, а затем разлагают хлоридом ртути(II)

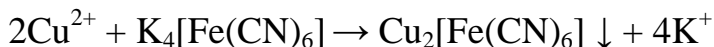
(см. лабораторная работа №2). Освободившиеся при этом ионы меди определяют при помощи соответствующих реакций.

Реакция с аммиаком. В пробирку вносят 3-5 капель раствора минерализата и прибавляют по каплям разбавленный раствор аммиака при перемешивании смеси. Выпадающий вначале голубой осадок основной соли меди(II) (сине-зеленого цвета), затем растворяется в избытке аммиака с образованием комплексного катиона $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ ярко-синего цвета.



Мешают катионы Co^{2+} , Ni^{2+} , Sn^{2+} .

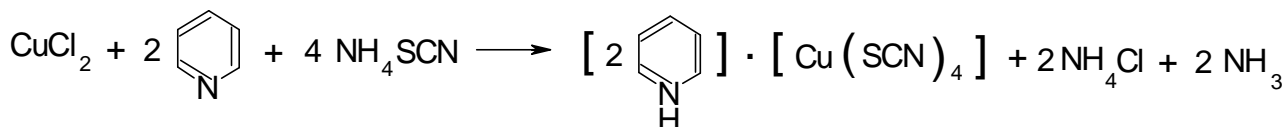
Реакция с гексацианоферратом(II) калия. К 0,5 мл водной фазы прибавляют 2-3 капли 5%-ного раствора гексацианоферрата(II) калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. При наличии ионов меди образуется красновато-коричневый осадок $\text{Cu}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. В присутствии ионов кадмия осадок имеет лиловую окраску.



Предел обнаружения: 0,1 мкг меди в пробе.

Мешают катионы Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} .

Реакция с пиридин-роданидным реактивом. В пробирку вносят 0,5 мл водной фазы, к которой по каплям прибавляют 1-2 мл пиридин-роданидного реактива. При этом образуется осадок (или муть), к которому прибавляют 2 мл хлороформа и хорошо взбалтывают. Образовавшийся осадок пиридин-роданидного комплекса меди растворяется в хлороформе, окрашивая его в изумрудно-зеленый цвет.



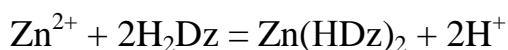
Предел обнаружения: 1 мкг меди в 1 мл раствора.

Граница обнаружения: 0,4 мг меди в 100 г биологического материала.

Обнаружение катионов цинка

Наличие ионов цинка в минерализате вначале определяют при помощи реакции с дитизоном. Если результат этой реакции окажется отрицательным, то дальнейшее исследование минерализата на наличие цинка не проводят. При положительном результате реакции далее проводят исследование минерализата на присутствие ионов цинка. Для этого ионы цинка выделяют из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата, который затем разлагают кислотой (см. лабораторная работа №2). В водной фазе ионы цинка определяют с помощью соответствующих реакций.

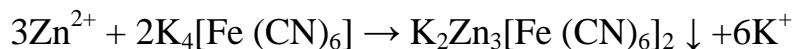
Реакция с дитизоном (предварительное исследование). В стакан вносят 0,5 мл минерализата, к которому прибавляют 0,25 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия, а затем по каплям прибавляют 5%-ный раствор гидроксид калия до рН 4,5-5,0. К этой смеси прибавляют 1 мл ацетатного буфера, перемешивают и количественно переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 1 мл хлороформа, 2 капли 0,01%-ного раствора дитизона в хлороформе, а затем содержимое делительной воронки хорошо взбалтывают. При наличии ионов цинка в минерализате зеленая окраска хлороформного слоя исчезает, а появляется розовая или пурпурно-красная окраска этого слоя (в зависимости от количества ионов цинка).



Предел обнаружения: 0,25 мкг цинка в 1 мл.

Граница обнаружения: 5 мкг цинка в 100 г биологического материала.

Реакция с гексацианоферратом(II) калия. К 1 мл водной фазы добавляют 5%-ный раствор едкого кали КОН до рН 5 (по универсальному индикатору) и 3–4 капли 5%-ного раствора гексацианоферрата(II) калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. При наличии ионов цинка выделяется белый осадок.



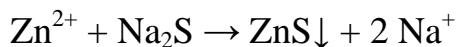
При добавлении избытка реактива может образоваться более растворимый осадок $\text{Zn}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Предел обнаружения: 3 мкг цинка в 1 мл.

Мешают катионы, образующие малорастворимые ферроцианиды.

Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл водной фазы прибавляют 5%-ный раствор едкого кали КОН до рН 5 и 3 – 4 капли свежеприготовленного

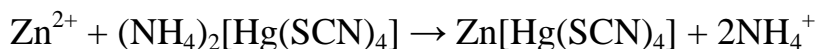
5%-ного раствора сульфида натрия Na_2S . Образование белого осадка ZnS указывает на наличие ионов цинка в водной фазе.



Предел обнаружения: 1,5 мкг цинка в 1 мл.

Мешают катионы Sn^{2+} .

Реакция с тетрароданомеркуратом аммония. На предметное стекло наносят 3-4 капли водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты CH_3COOH и каплю раствора тетрароданомеркурата аммония $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$. В присутствии ионов цинка образуются бесцветные одиночные клиновидные кристаллы или дендриты тетрароданомеркурата цинка $\text{Zn}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$.



Предел обнаружения: 0,2 мкг цинка в 1 мл.

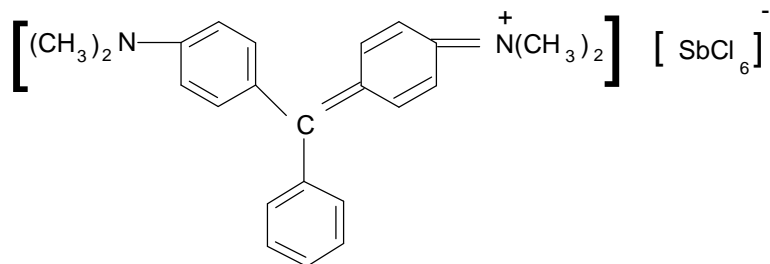
Обнаружение катионов сурьмы

После разрушения биологического материала сурьма находится в виде сульфата сурьмы(III) $\text{Sb}_2(\text{SO}_4)_3$. Для обнаружения сурьмы в минерализате применяют реакции образования ионного ассоциата с малахитовым зеленым (или бриллиантовым зеленым), тиосульфатом и другие.

Реакция с малахитовым зеленым. Эта реакция основана на том, что малахитовый зеленый с ацидокомплексом сурьмы $[\text{SbCl}_6]^-$ образует ионный ассоциат, который экстрагируется толуолом, окрашивая эти растворители в синий или голубой цвет.

В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 М раствора соляной кислоты и 2 капли 5%-ного раствора нитрита натрия NaNO_2 (для перевода $\text{Sb}(\text{III})$ в $\text{Sb}(\text{V})$). Смесь взбалтывают, а затем через 5 минут добавляют 1 мл насыщенного раствора мочевины $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ и 7 капель 0,5%-ного раствора малахитового зеленого в смеси воды и этилового спирта (3:1), 2 г безводного сульфата натрия Na_2SO_4 и 5 мл толуола. Содержимое делительной воронки взбалтывают в течение 10-15 с. При наличии сурьмы в минерализате толуольный слой приобретает синюю или голубую окраску. Окрашенный толуольный слой переносят в другую делительную воронку, прибавляют 3 мл

2 М раствора серной кислоты и взбалтывают. При наличии сурьмы толуольный слой не должен обесцвечиваться.

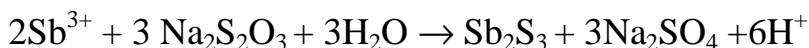


Предел обнаружения: 0,5 мкг сурьмы в 1 мл.

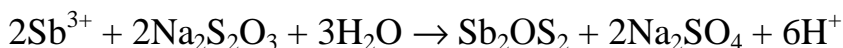
Граница обнаружения: 0,1 мг сурьмы в 100 г биологического материала.

Мешают ионы Pb^{3+} .

Реакция с тиосульфатом натрия. В пробирку вносят 5 мл минерализата, прибавляют 5 капель насыщенного раствора тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и кипятят смесь в течение 1–2 мин. Образование оранжевого осадка сульфида сурьмы(III) Sb_2S_3 указывает на наличие сурьмы в минерализате. Эту реакцию в основном применяют для отличия сурьмы от таллия, который не дает осадка с тиосульфатом натрия.



При определенных условиях протекания этой реакции вместо осадка Sb_2S_3 может образоваться красный осадок серооксида сурьмы (сурьмяной киновари) Sb_2OS_2 :



Большой избыток кислоты мешает реакции образования Sb_2S_3 , так как при этом происходит разложение тиосульфата натрия с выделением серы:

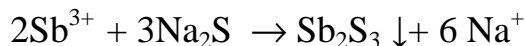


Предел обнаружения: 10 мкг сурьмы в пробе.

Граница обнаружения: 0,4 мг сурьмы в 100 г биологического материала.

Мешают катионы Bi^{3+} .

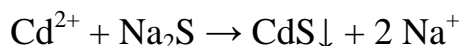
Реакция с сульфидом натрия. В пробирку вносят 5 капель исследуемого раствора и прибавляют по каплям 5%-ный раствор сульфида натрия Na_2S . Выпадает оранжевый осадок сульфида сурьмы(III).



Обнаружение катионов кадмия

При исследовании минерализата на наличие ионов кадмия их переводят в комплекс с диэтилдитиокарбаматом натрия. Далее комплекс экстрагируют хлороформом, а затем разлагают соляной кислотой (см. лабораторная работа №2). В солянокислом растворе определяют наличие ионов кадмия.

Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл водной фазы по каплям прибавляют 2,5 М раствор едкого натра NaOH до pH 5 (по универсальному индикатору) и 3–4 капли свежеприготовленного 5%-ного раствора сульфида натрия Na_2S . Образование желтого осадка сульфида кадмия CdS указывает на наличие ионов кадмия в растворе.

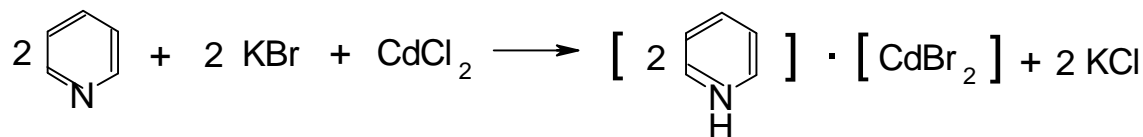


При отрицательном результате этой реакции дальнейшее исследование водной фазы на наличие ионов кадмия не производят. При положительной реакции образования сульфида кадмия дополнительно проверяют наличие ионов кадмия в водной фазе.

Предел обнаружения: 50 мкг кадмия в пробе.

Граница обнаружения: 2 мг кадмия в 100 г биологического материала.

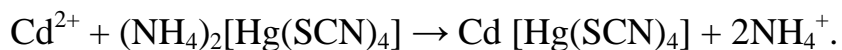
Реакция с пиридином и бромидом калия. На предметное стекло наносят 2–3 капли водной фазы и выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю пиридина и каплю 5%-ного раствора бромида калия KBr . При наличии ионов кадмия в растворе образуются бесцветные призматические кристаллы $[\text{C}_5\text{H}_5\text{NH}]_2 [\text{CdBr}_4]$, собранные в виде сфероидов.



Предел обнаружения: 0,05 мкг кадмия в пробе.

Граница обнаружения: 0,2 мг кадмия в 100 г биологического материала.

Реакция с тетрароданомеркуратом аммония. На предметное стекло наносят 3-4 капли водной фазы, которую выпаривают досуха. На сухой остаток наносят каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты CH_3COOH и каплю раствора тетрароданомеркурата аммония $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$. В присутствии ионов кадмия образуются бесцветные (или белые) продолговатые кристаллы тетрароданомеркурата кадмия $\text{Cd}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$.



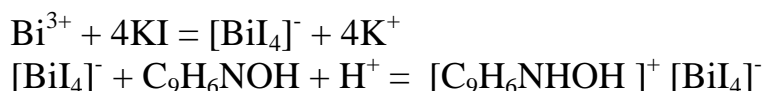
Предел обнаружения: 1,0 мкг кадмия в 1 мл.

Обнаружение катионов висмута

Висмут выделяют из минерализата с помощью диэтилдитиокарбамата, который экстрагируют хлороформом (см. лабораторная работа №2). После прибавления кислоты к хлороформной вытяжке происходит разложение диэтилдитиокарбамата висмута. Образовавшиеся при этом ионы висмута переводят в водную фазу, которую используют для обнаружения ионов висмута с помощью соответствующих реакций.

Реакция с 8-оксихинолином (оксином). К 10 мл минерализата прибавляют 0,5 г аскорбиновой кислоты, сегнетовой соли и иодида калия. При этом появляется интенсивно-желтая окраска иодовисмутата $[\text{BiI}_4]^-$, которая не должна переходить в синюю от прибавления капли раствора крахмала. При появлении синей окраски к смеси реагирующих веществ прибавляют по каплям 10%-ный раствор тиосульфата натрия до исчезновения окраски. После этого к смеси, имеющей желтую окраску, по каплям осторожно прибавляют 1-2 мл 2%-ного раствора оксина в 2 М соляной кислоте. На границе соприкосновения раствора оксина и находящейся в пробирке жидкости через 1-2 мин появляется оранжево-желтый осадок иодовисмутата оксина.

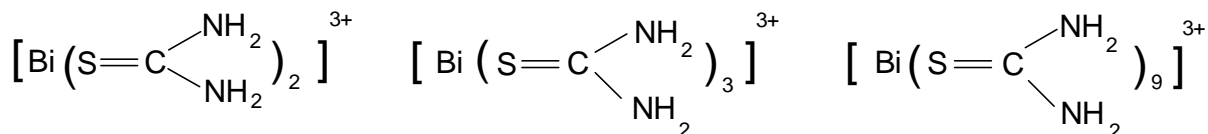
Если в пробе содержится незначительное количество ионов висмута, то указанный осадок может появиться только через 30-60 мин. Поэтому, не дожидаясь образования осадка, содержимое пробирки переносят в делительную воронку, в которую прибавляют 3 мл смеси равных объемов ацетона и амилацетата, а затем взбалтывают. При наличии ионов висмута в минерализате слой органических растворителей (ацетон-амилацетат) приобретает оранжево-розовую окраску.



Предел обнаружения: 5 мкг висмута в пробе.

Граница обнаружения: 0,1 мг висмута в 100 биологического материала.

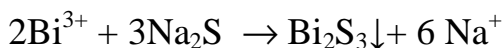
Реакция с тиомочевинной. В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора, к которому прибавляют 0,5 мл насыщенного раствора тиомочевинны $(\text{NH}_2)_2\text{CS}$. В присутствии ионов висмута образуются тиомочевинные комплексы, имеющие лимонно-желтую окраску:



Мешают катионы Hg^{2+} , Fe^{3+} .

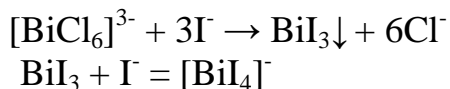
Данная реакция имеет отрицательное судебно-химическое значение.

Реакция с сульфидом натрия. При прибавлении по каплям раствора сульфида натрия Na_2S к минерализату, содержащему ионы висмута(III), выпадает черно-коричневый осадок сульфида висмута Bi_2S_3 .



Предел обнаружения: 50 мкг висмута в пробе.

Реакция с иодидами. В пробирку вносят около 5 капель минерализата, столько же капель соляной кислоты и прибавляют по каплям раствор иодида калия KI до выпадения черного осадка иодида висмута(III) BiI_3 . Дальнейшее прибавление избытка раствора KI приводит к растворению осадка и образованию оранжевого раствора, содержащего тетраиодовисмутат(III)-ионы $[\text{BiI}_4]^-$.



При прибавлении воды к этому раствору и его нагревании образуется оранжевый осадок иодида висмутила BiOI .

Проводят исследование минерализата на наличие “металлических ядов” с помощью соответствующих для каждого катиона качественных реакций. Полученные данные заносятся в таблицу:

Таблица

Катион	Методика выполнения реакции	Уравнение химической реакции	Наблюдаемый эффект. Вывод о присутствии иона в минерализате

Делается вывод о присутствии того или иного катиона металла в исследуемом объекте. Составляется экспертное заключение.

Количественное определение “металлических ядов” в минерализатах

Основными методами количественного определения “металлических ядов” в химико-токсикологическом анализе являются спектральные молекулярно-абсорбционные (колориметрия, фотометрия, спектрофотометрия) и атомно-абсорбционные методы анализа. Титриметрический и гравиметрический методы анализа в настоящее время практически не используются в ХТА для количественного исследования минерализатов на наличие металлов.

Молекулярно-абсорбционные методы основаны на измерении уменьшения интенсивности электромагнитного излучения, прошедшего через анализируемое вещество. Наиболее простым молекулярно-абсорбционным методом анализа является *колориметрия*. В колориметрии проводят сравнение окраски анализируемого и стандартного раствора вещества визуальным способом. Визуальные колориметрические методы рекомендованы для количественного определения ртути и мышьяка. Ртуть определяют по интенсивности окраски суспензии $Cu_2[HgI_4]$, а мышьяк по окраске индикаторных бумажек, пропитанных бромидом или хлоридом ртути.

Фотометрия основана на измерении интенсивности немонахроматического светового потока, прошедшего через раствор вещества, фотоэлектрическим способом. *Спектрофотометрия* – измерение интенсивности мономатического (определенной длины волны) светового потока, прошедшего через анализируемый раствор вещества фотоэлектрическим способом.

Экстракционно-фотометрический метод сочетает экстракцию и фотометрию. Экстракционно-фотометрический метод применяют при определении компонента сложной смеси, когда другие присутствующие в смеси вещества мешают проведению анализа, например, поглощают свет при той же длине волны, что и определяемый компонент. При этом подбирают такой экстрагент, который селективно извлекает из анализируемого раствора только определяемый компонент, после чего измеряют светопоглощение экстракта при аналитической длине волны определяемого компонента. Также экстракционно-фотометрический метод используют при определении веществ, содержащихся в анализируемом растворе в малых концентрациях, недостаточных для определения их светопоглощения. В таких случаях проводят концентрирование, экстрагируя определяемое вещество из сравнительно большого объема исходного анализируемого раствора в малый объем экстрагента. При этом концентрация определяемого вещества в экстракте повышается, вследствие чего становится возможным измерение оптической плотности экстракта при аналитической длине волны определяемого вещества.

При использовании экстракционно-фотометрического метода необходимо, чтобы степень извлечения определяемого вещества из исходного анализируемого раствора экстрагентом была количественной, т.е. чтобы в экстракт переходило не менее 99,9% определяемого вещества. Это достигается путем выбора подходящих органических экстрагентов, экстракционных реагентов, фотометрической реакции, создания оптимального значения рН в исходном анализируемом растворе, введения маскирующих реагентов и т.д.

При определении “металлических ядов” в минерализате фотоколориметрическим методом в ХТА в качестве реактивов применяют дитизон (для определения ртути, серебра, свинца и таллия), малахитовый или бриллиантовый зеленый (для определения сурьмы, таллия), дифенилкарбазид (для определения хрома), диэтилдитиокарбаматы (для определения меди, мышьяка), тиомочевину (для определения висмута). Фотоколориметрический метод определения ионов марганца основан на переводе этих ионов в перманганат.

Молекулярно-абсорбционные методы анализа обладают сравнительно высокой чувствительностью, хорошей воспроизводимостью, селективностью, простотой выполнения анализа. Относительная ошибка определения фотоколориметрического определения концентрации обычно не превышает $\pm 3\%$.

Атомно-абсорбционный анализ – метод элементного анализа и исследования вещества по атомным спектрам поглощения. Для наблюдения этих спектров через атомный пар пробы пропускают видимое или УФ излучение. В результате поглощения квантов излучения электроны атомов переходят с нижних энергетических уровней на возбужденные. Этим переходам в атомном спектре соответствуют резонансные линии, характерные для данного элемента.

Метод атомно-абсорбционной спектрометрии отличается высокой селективностью, низкими пределами обнаружения ($10^{-1} - 10^{-4}$ мкг/мл), хорошей воспроизводимостью, возможностью автоматизации (до 500 определений в 1 час). Данный метод применяется для определения как следов вещества (до 10^{-6} %), так и макроколичеств примерно 70 элементов (главным образом металлов).

В основе спектральных методов анализа лежит закон Бугера-Ламберта-Бера, связывающий уменьшение интенсивности света, прошедшего через слой светопоглощающего вещества, с концентрацией вещества и толщиной поглощающего слоя:

$$I = I_0 \cdot 10^{-k \cdot l \cdot c},$$

где I_0 и I – интенсивность излучения от источника соответственно до (I_0) и после (I) прохождения через поглощающий слой;

k – коэффициент поглощения (светопоглощения) вещества;

l – толщина светопоглощающего слоя;

c – концентрация определяемого вещества в анализируемом растворе.

Однако в практике спектрохимических определений данный закон применяют не в экспоненциальной форме, а в логарифмической форме:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c,$$

где $A = \lg(I_0/I)$ – оптическая плотность (погашение, экстинкция) раствора при данной длине волны;

$\epsilon = k / 2,3$ – коэффициент экстинкции (коэффициент погашения).

Основной закон светопоглощения справедлив только для поглощения монохроматического светового потока с постоянной длиной волны $\lambda = \text{const}$.

Чувствительность количественного определения металлов зачастую лежит на границе с естественным содержанием большинства токсикологически важных элементов. Поэтому при интерпретации полученных результатов количественного анализа необходимо руководствоваться данными о естественном содержании металлов в организме человека (табл.3).

Таблица 3

**Содержание некоторых элементов
в органах человека, мг/100 г органа (по данным А.О.Войнара)**

Катионы	Печень	Почки
Hg ²⁺	0-0,01	0-0,04
Pb ²⁺	0,130	0,027
Ba ²⁺	-	-
Mn ²⁺	0,13-0,40	0,06-0,28
Cr ³⁺	0,001-0,013	0,028-0,029
Ag ⁺	0,005	-
Cu ²⁺	0,56-1,12	0,26-0,40
Sb ³⁺	-	-
As ³⁺	0,01-0,07	0,01-0,08
Bi ³⁺	-	-
Zn ²⁺	2,73-6,71	1,76-6,16
Cd ²⁺	0,64-6,68	1,32-8,48

Вопросы для самоконтроля

1. Какие методы используются для разделения и количественного определения ионов металлов в химико-токсикологическом анализе?
2. В чем заключается сущность методов молекулярной абсорбционной спектроскопии?
3. В чем заключается сущность метода атомной абсорбционной спектроскопии?
4. Какой закон лежит в основе спектральных методов анализа?
5. Назовите основные узлы приборов для абсорбционных измерений.
6. Каковы преимущества атомно-адсорбционного метода анализа при использовании его в ХТА?
7. В чем заключается принцип использования приема градуировочного графика?
8. Как проводится статистическая обработка результатов количественного определения в ХТА?
9. Как необходимо проводить интерпретацию результатов химико-токсикологического анализа с учетом естественного содержания металлов в организме?
10. Как составляется экспертное заключение при проведении ХТА с диагностической целью и акт проведения судебно-химической экспертизы, связанные с проведением исследования на “металлические яды”?

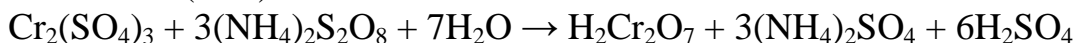
Лабораторная работа № 4

ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХРОМА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Цель работы: определение содержания хрома(III) (в минерализате и осадке) на фотоэлектроколориметре КФК-2 методом градуировочного графика.

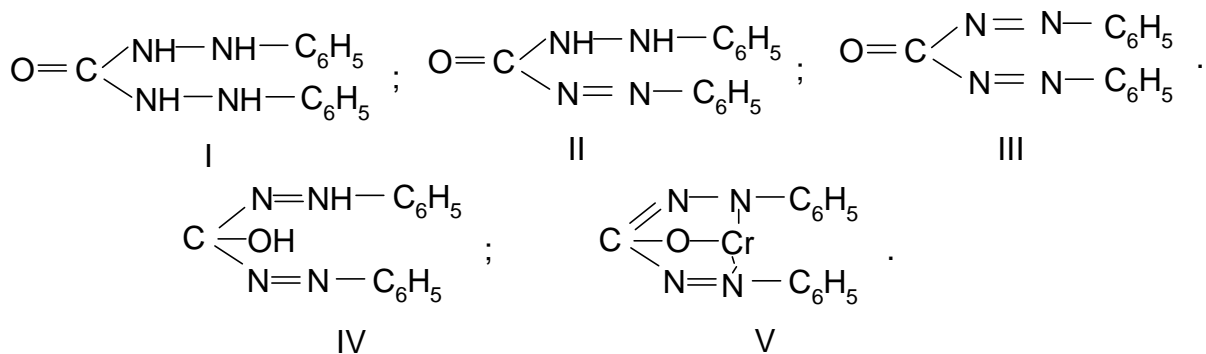
Сущность работы.

При определении хрома(III) в исследуемом образце предварительно проводят фотометрическую химическую реакцию образования внутрикомплексного соединения ионов хрома с дифенилкарбазидом. При проведении этой реакции ионы Cr^{3+} , находящиеся в минерализате, окисляют персульфатом аммония в присутствии катализатора (ионов серебра) до дихромат-ионов (Cr^{6+}).



Чувствительность этой реакции понижают ионы железа(III), сурьмы(III). Для маскировки мешающих ионов прибавляют фосфаты.

Образовавшиеся дихромат-ионы реагируют с дифенилкарбазидом. Вначале дихромат-ионы окисляют дифенилкарбазид (I) до дифенилкарбазона (II), который не имеет окраски. При дальнейшем окислении образуется дифенилкарбадиазон (III), имеющий светло-желтую окраску:



При этой реакции дихромат-ионы восстанавливаются до двухвалентного хрома. Ионы хрома Cr^{2+} с енольной формой дифенилкарбазона (IV) дают внутрикомплексную соль (V), имеющую красно-фиолетовую окраску.

В данной работе для определения хрома фотометрическим способом используется метод градуировочного графика. График строят в координатах: оптическая плотность – концентрация (А-с) при длине волны λ_{max} , соответствующей максимальному поглощению раствора, и с его помощью определяют содержание хрома в минерализате и в осадке.

Подчиняемость закону Бугера–Ламберта–Бера лежит в пределах концентраций хрома 0,001–1 мкг в 1 мл.

Материалы и оборудование:

1. Фотоэлектроколориметр КФК-2 и кюветы с толщиной поглощающего слоя 50 мм.
2. Аналитические весы.
3. Горелка.
4. Пипетки емкостью 5,00 мл.
5. Мерные колбы емкостью 50,00 мл и 1000,00 мл.
6. Цилиндр емкостью 10 мл.
7. Колба Кьельдаля.
8. Исследуемый раствор минерализата.
9. Дихромат калия, $K_2Cr_2O_7$, сухая соль.
10. Персульфат аммония, $(NH_4)_2S_2O_8$, сухая соль.
11. Гидроксид натрия, NaOH, 10%-ный раствор.
12. Дигидрофосфат натрия, NaH_2PO_4 , насыщенный раствор.
13. Дифенилкарбазид, $(C_6H_5NHNH)_2CO$, 0,25%-ный раствор в смеси этилового спирта и ацетона (1:1).
14. Серная кислота, H_2SO_4 , 1 М раствор.
15. Серная кислота, H_2SO_4 , 1%-ный раствор.
16. Нитрат серебра, $AgNO_3$, 10%-ный раствор.

Выполнение работы.

1. Приготовление стандартного раствора дихромата калия $K_2Cr_2O_7$.

Навеску 2,83 мг $K_2Cr_2O_7$, взятую на аналитических весах, растворяют в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью 1000 мл. Приготовленный раствор содержит 1 мкг хрома в 1 мл.

2. Определение спектральной характеристики исследуемого раствора.

В мерную колбу емкостью 50 мл помещают 2,5 мл стандартного раствора дихромата калия, прибавляют серную кислоту до установления значения $pH\ 1,7 \pm 0,2$ и добавляют 1 мл раствора дифенилкарбазида. Доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и через 20 минут фотометрируют полученный раствор при длинах волн: 490, 540, 590, 670, 750 нм. По графику зависимости оптическая плотность – длина волны ($A - \lambda$) определяют значение λ_{max} , при котором затем строят градуировочный график.

3. Построение градуировочного графика.

В мерные колбы емкостью 50 мл отмеряют пипеткой 0,5; 1,0; 2,5; 4,0; 5,0 мл стандартного раствора дихромата калия $K_2Cr_2O_7$. В каждую колбу добавляют серную кислоту до pH $1,7 \pm 0,2$ и 1 мл раствора дифенилкарбазида. Растворы доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Через 20 минут после приготовления растворов измеряют их оптическую плотность при длине волны λ_{max} в кювете с толщиной поглощающего слоя $l = 50$ мм. В качестве раствора сравнения используют дистиллированную воду.

Полученные данные записывают в таблицу:

Таблица

N п/п	Объем стандартного раствора в эталоне, мл	C_{Cr} , мкг/мл	A при λ_{max}

На основании полученных данных строят градуировочный график в координатах A-с.

4. Определение хрома в минерализате.

В мерную колбу на 50 мл помещают 1 мл минерализата, 4 мл воды и производят окисление персульфатом аммония $(NH_4)_2S_2O_8$. Раствор доводят дистиллированной водой до метки.

Для количественного определения берут аликвотную часть раствора, помещают в мерную колбу на 50 мл, прибавляют 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия NaH_2PO_4 и, добавляя 10%-ный раствор NaOH, устанавливают pH $1,7 \pm 0,2$. Далее прибавляют 1 мл раствора дифенилкарбазида и доводят объем до метки. Интенсивность окраски измеряют через 20 мин.

Расчет содержания хрома в минерализате проводят по формуле:

$$m_1 = \frac{C_1 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 100}{P \cdot 1000},$$

где m_1 – содержание хрома в минерализате в мг на 100 г объекта;

C_1 – концентрация хрома, мкг/мл;

V_1 – объем фотометрируемого раствора (полученный после окисления 1 мл минерализата и разбавления), мл;

V_2 – общий объем минерализата, мл;

P – масса биологического материала, взятого на анализ, г.

В тех случаях, когда оптическая плотность исследуемого раствора выходит за пределы калибровочного графика, необходимо повторить опыт, взяв меньший объем минерализата.

5. Определение хрома в осадке.

При наличии окрашенного в серо-зеленый цвет осадка сульфатов его количественно переносят в колбу Кьельдаля, смывая 1%-ным раствором серной кислоты, добавляют 1 каплю 10%-ного раствора нитрата серебра, 1,0 г персульфата аммония и нагревают на асбестовой сетке до полного прекращения выделения пузырьков газа. К охлажденному раствору добавляют воду до первоначального объема, 0,5 г $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ и вновь нагревают до прекращения выделения пузырьков газа. Эту операцию проводят либо до полного растворения осадка, либо до исчезновения зеленой окраски осадка (на эту операцию затрачивается до 4,0 г $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$). Затем охлажденную жидкость переносят в мерную колбу и доводят водой до метки.

Для определения хрома берут аликвотную часть. Далее поступают как описано для минерализата. Содержание хрома в осадке определяют по формуле:

$$m_2 = \frac{C_2 \cdot V_3 \cdot V_5}{V_4 \cdot 1000},$$

где m_2 – содержание хрома в осадке, мг;

C_2 – концентрация хрома, мкг/мл;

V_3 – объем фотометрируемого раствора, мл;

V_4 – объем раствора, взятого для реакции с дифенилкарбазидом, мл;

V_5 – объем раствора, полученного после окисления осадка, содержащего хром, мл.

Суммарное содержание хрома (m , мг) определяется как сумма m_1 и m_2 :

$$m = m_1 + m_2.$$

На основании полученных данных составляется экспертное заключение.

Лабораторная работа №5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ “МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ЯДОВ” МЕТОДОМ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Цель работы: приобретение навыков работы на спектрометре КВАНТ-Z.ЭТА; овладение методикой количественного определения "металлических ядов" методом ААС.

Сущность работы.

Метод основан на измерении абсорбционности (оптической плотности) атомного пара определяемого элемента, получаемого при электротермической атомизации пробы в графитовой печи атомно-абсорбционного спектрометра. Измерение оптической плотности атомного пара производится по резонансной спектральной линии элемента, излучаемого лампой с полым катодом (ЛПК). Измеряемая оптическая плотность атомного пара определяемого элемента однозначно связана с концентрацией этого элемента в пробе градуировочной зависимостью.

Материалы и оборудование:

1. Спектрометр КВАНТ-Z.ЭТА.
2. Микропипетка объемом 5 мкл.
3. Исследуемый минерализат.

Выполнение работы.

Для построения градуировочных графиков используются стандартные растворы следующих концентраций: Cd 0,5–2,0; Cu 10–40; Pb 10–40; Zn 500–5000 мкг/л. Градуировочный график строится для соответствующего металла минимум по 4 растворам, включая фоновый раствор.

Измерение концентрации элемента в разбавленном растворе минерализата производят согласно инструкции по эксплуатации спектрометра КВАНТ-Z.ЭТА. Для настройки прибора необходимо установить спектральные параметры определения элементов: длину резонансной линии, ширину щели монохроматора, ток ЛПК.

Таблица

Спектральные параметры атомно-абсорбционного
определения элементов

Элемент	Длина волны резонансной линии, нм	Ширина щели монохроматора, мм	Ток ЛПК (лампы с полым катодом), мА
Cd	228,8	0,50	5
Cu	324,8	0,25	25
As	193,7	0,50	25
Pb	283,3	0,25	10
Zn	307,6	0,50	20

Аликвоту анализируемой пробы объемом 5 мкл с помощью микропипетки вносят в графитовую печь электротермического атомизатора. Включают программу нагрева печи, которая состоит из стадии испарения, трех стадий пиролиза, стадии атомизации и стадии очистки. Параметры этих стадий влияют на воспроизводимость и чувствительность определения элементов. После окончания программы нагрева и индикации результатов измерения на дисплее компьютера считывают значение массовой концентрации элемента в анализируемом растворе, вычисленное программой по амплитуде анализируемого сигнала.

Измерение концентрации в данной пробе проводят два раза. За результат измерения принимают среднее арифметическое значение.

Расхождение между двумя значениями не должно превышать 5%, то есть:

$$|X_1 - X_2| / X_{cp} \leq 0,05.$$

Массовую долю металла в пробах биологического материала в мкг/г вычисляют по формуле:

$$m = \frac{(C - C_0) \cdot V}{P} 1000,$$

где C – концентрация элемента в анализируемом растворе, мкг/л;

C_0 – концентрация элемента в фоновом (холостом) растворе, мкг/л;

V – объем анализируемого раствора, л;

P – навеска пробы, г.

Результаты измерений концентрации элемента представляют в виде:

$$m \pm D, \text{ мкг/г},$$

где D – абсолютная погрешность измерения массовой доли элемента при доверительной вероятности равной 0,95.

На основании полученных результатов составляется экспертное заключение.

Бюро судебно-медицинской экспертизы
(адрес) _____

Код формы по ОКУД _____
Код формы по ОКПО _____
Медицинская документация
Форма 3 175/У
Утверждена Минздравом РФ

А К Т судебно-химического исследования

№ _____

На основании отношения _____

от № _____ в химическом отделении судебно-медицинской _____

лаборатории бюро судебно-медицинской экспертизы Воронежского _____

облздравотдела, экспертом-химиком отделения _____

произведено исследование _____

Исследование начато _____

Исследование закончено _____

Вопросы, подлежащие разрешению при исследовании, и другие разделы
“Акта судебно-химического исследования” излагаются на следующих
_____ листах.

Вопросы к коллоквиуму по теме “Металлические яды”

1. Металлические яды, подлежащие химико-токсикологическому исследованию. Токсичность и физико-химические свойства.
2. Вопросы токсикокинетики “металлических ядов” (всасывание соединений тяжелых металлов, механизм связывания в организме, распределение, выделение). Клиника отравлений и клиническая диагностика.
3. Объекты исследования. Правила отбора и подготовки биологических образцов к анализу.
4. Методы изолирования соединений тяжелых металлов и мышьяка из биологического материала (сухое озоление, влажное озоление, другие методы). Сущность методов. Достоинства и недостатки.
5. Техника проведения минерализации концентрированными кислотами. Подготовка минерализата к исследованию.
6. Принципы и способы разделения ионов металлов.
7. Методология и особенности дробного и систематического хода анализа.
8. Качественные реакции, лежащие в основе дробного метода анализа на ионы: Pb^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{3+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Sb^{3+} , Bi^{3+} , Zn^{2+} , As^{3+} .
9. Изолирование, обнаружение и количественное определение ионов ртути.
10. Характеристика методов количественного определения “металлических ядов”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крамаренко, В.Ф. Токсикологическая химия / В.Ф. Крамаренко. – Киев : Высш.шк., 1989.
2. Швайкова, М.Д. Токсикологическая химия / М.Д. Швайкова. – М. : Медицина, 1975.
3. Основы аналитической токсикологии : международная программа по химической безопасности. – М. : Медицина, 1997.
4. Белова, А.В. Руководство к практическим занятиям по токсикологической химии / А.В. Белова. – М. : Медицина, 1978.
5. Крылова, А.Н. Исследование биологического материала на “металлические яды” дробным методом / А.Н. Крылова. – М. : Медицина, 1975.
6. Ершов, Ю.А. Механизм токсического действия неорганических соединений / Ю.А.Ершов, Т.В. Плетнева. – М. : Медицина, 1989.
7. Лужников, Е.А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – М. : Медицина, 1994.
8. Харитонов, Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика) : в 2-х кн. / Ю.Я. Харитонов. – М. : Высш. шк., 2003.
9. Золотов, Ю.А. Химические тест – методы анализа / Ю.А. Золотов, В.М. Иванов, В.Г. Амелин. – М. : Едиториал УРСС, 2002.
10. Пятницкий, И.В. Маскирование и демаскирование в аналитической химии / И.В. Пятницкий, В.В. Сухан. – М. : Наука, 1990.

Составители: Шкутина Ирина Викторовна
Евстигнеева Валентина Петровна
Брежнева Татьяна Александровна
Сливкин Алексей Иванович
Селеменев Владимир Федорович

Редактор Тихомирова О.А.

